

СОДЕРЖАНИЕ
журнала "БИОМЕДИЦИНА"
№ 1, 2004 год

Обзоры

Р.Ш.Абдурахманов

3 Физиологические аспекты гипоксии нагрузки

А.Э.Дадашева

10 Трансфузионные вирусные гепатиты у онкологических больных

Ф.И.Ершов, А.А.Кадырова

17 Интерфероны как стимуляторы иммунологически обусловленной резистентности

Оригинальные статьи

А.И.Юсифов

23 Ферменты регуляции активности плазминогена в опухолях костей

Т.Ш.Мамедова

27 Некоторые патогенетические факторы развития неврологических нарушений у больных острыми вирусными гепатитами А, В и С

Э.М.Агаев

30 Синтез меченых антител к гемагглюнину вируса гриппа

Краткие сообщения

Э.А.Алиева

34 Эффективное влияние энтеросорбции на динамику токсичности крови при перитоните

История биомедицины

36 К 15-летию идентификации вируса гепатита С

Хроника

Список работ, опубликованных в журнале в 2003 году

CONTENTS
"BIOMEDICINE" journal
№ 1, 2004

Reviews

R.Abdurahmanov

3 Physiological aspects of tension hypoxia

A.Dadasheva

10 Transfusion viral hepatitis in oncological patients

F.Yershov, A.Kadyrova

17 Interferons as stimulators of the immune-mediated resistance

Original articles

A.Yusifov

23 Regulation enzymes of plazminogen activity in bone tumors

T.Mamedova

27 Several pathogenetic factors of neurological disorders development at patients with acute viral hepatitis A, B and C

E.Agayev

30 Synthesis of labelled antibodies to influenza virus hemagglutinin

Brief communications

E.Aliyeva

34 Effective influence of enterosorbition to dynamics of the toxicity of blood at peritonitis

History of biomedicine

36 To 15-th anniversary of identification of hepatitis C virus

Chronicle

The list of papers published in the journal in 2003

ОБЗОРЫ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

Физиологические аспекты гипоксии нагрузки

Р. Ш. Абдурахманов

Азербайджанская Государственная Академия физического воспитания и спорта, г. Баку

Гипоксия, точнее, некоторые из ее внешних проявлений еще с древних времен была предметом интереса военных и путешественников и объектом изучения ученых. Первые упоминания о гипоксии датируются 530 г. до н.э. в летописях военных походов Кира и позднее, в описаниях походов Александра Македонского и других военачальников, которые проходили в высокогорных условиях. Описания гипоксии регулярно приводились и в записях путешественников, которым приходилось преодолевать высокогорные области (5, 38).

Понимание причин гипоксии, как и появление самого названия этого феномена стало возможным только после открытия Лавуазье, показавшего, что в составе атмосферного воздуха присутствует элемент, необходимый для дыхания и горения, названный им кислородом (КР). Однако, лишь в XIX в. в период открытия важнейших физиологических законов в литературе прочно укрепился этот термин (*huroxia*; от греч. *huro* - ниже, лат. *oxugetum* - кислород), под которым понималось кислородное голодание организма.

С развитием науки и техники и освоением воздушного и водного пространств, а также других, экстремальных в смысле нехватки кислорода, областей деятельности человека актуальность изучения проблемы гипоксии, адаптации к ней, а также рационального использования адаптационных механизмов для повышения работоспособности и выносливости человека и животных, резко возросла. Под воздействием техногенных факторов, влияющих на состояние биосферы, с каждым годом снижается содержание КР во вдыхаемом воздухе. Вместе с тем, резерв КР для живых существ в атмосфере практически неисчерпаем, а запасы КР в организме строго ограничены, и по мере продвижения КР от легких к тканям его резервы снижаются. Механизмы, ограничивающие доставку КР в организм, начинают функционировать с легких. Диффузия КР из альвеол в кровь зависит от соотношения между легочной вентиляцией и легочным кровотоком, а также от площади диффузионной поверхности и диффузионной проницаемости альвеолярно-капиллярных мембран.

Содержание КР в артериальной крови определяется шунтирующими возможностями легких, сродством гемоглобина к КР и пр. Транспорт КР кровью, в свою очередь, лимитируется кислородной емкостью и минутным объемом крови. Доставка КР к клеткам зависит от перераспределения крови в тканях, напряжения (давления) КР (Н-КР) в артериальной и венозной крови, а также от размеров капиллярного ложа. Еще более ограничены запасы КР в мышечных структурах, которые, даже несмотря на наличие депо КР, связанного с миоглобином в мышечной ткани, могут существовать без поступления новых порций КР лишь в течение очень короткого времени (31).

Регуляция клеточного метаболизма, включая нормальное функционирование всех органов и клеток возможна, лишь при условии полного соответствия скорости поэтапной доставки КР к тканям и клеткам и их потребности в КР.

Основной функцией КР в организме является поддержание системы митохондриального дыхания, сводящегося к акцептированию электронов от цитохромоксидазного комплекса (29, 45). Установлено, что оптимальным для поддержания максимальной скорости переноса КР в дыхательной цепи на митохондриальной мембране является давление КР не менее 3-5 мм рт.ст. во внутриклеточной среде (47). Для его обеспечения на наружной клеточной мембране должен создаваться градиент парциального Н-КР порядка 15-20 мм рт.ст. Все физиологические системы организма, задействованные в поддержании этого критического парциального Н-КР в тканях, и определяют уровень его здоровья и функциональных возможностей (15, 21). Всякий раз, когда Н-КР в клетках и тканях организма становится ниже критического значения, при котором еще возможно поддержание максимальной скорости ферментативных окислительных реакций в дыхательной цепи митохондрий, возникает состояние гипоксии (16).

Причинами, обуславливающими возникновение и развитие гипоксического состояния, могут быть как внешние факторы, такие как, изменение газового состава среды, подъем на высоко-

ту, затруднение легочного дыхания, так и внутреннее - функциональная недостаточность или органические изменения жизненно важных органов, резкие изменения обмена веществ, сопровождающиеся увеличением кислородного запроса тканей, действие ядов и вредных продуктов обмена и т.д.

Гипоксия оказывает выраженное влияние на протекание метаболических и физиологических процессов в организме, определяющих состояние здоровья и работоспособности человека, независимо от причин, ее порождающих. Недостаток КР во вдыхаемом воздухе не является раздражителем, адресованным к какому-либо определенному органу чувств, как, к примеру, происходящая активация экстерорецепторов при воздействии холода или физических нагрузок. Нехватка КР постепенно приводит к развитию гипоксемии (обеднение кислородом крови) и, тем самым, нарушает метаболический гомеостаз. Только после возникновения гипоксемии включаются механизмы, воздействующие на хеморецепторы аортальнокаротидной зоны и непосредственно на центры, регулирующие дыхание и кровообращение, а также и на другие органы, вызывая тем самым неспецифическую адаптационную реакцию функциональных систем организма, ответственных за транспорт КР и его распределение в тканях. Преимущественно во всех системах организма гипоксия вызывает снижение уровня функций, как, например, функций высших отделов головного мозга и двигательного аппарата, что проявляется в известных нарушениях интеллектуальной и двигательной активности (37).

Непосредственно действие гипоксии на клетки коры головного мозга, скелетных мышц и других органов в значительной мере реализуется не через интенсификацию функции, а за счет того, что снизившееся Н-КР в тканях лимитирует интенсивность окислительного фосфорилирования в митохондриях. Это означает недовыработку АТФ каждой митохондрией и составляет первичный эффект острой гипоксии в клетках, становясь причиной нарушения функций организма и ограничения его поведенческой и трудовой активности.

Причины возникновения и особенности развития различных гипоксических состояний обусловили необходимость их систематизации и классификации на несколько типов. Современный системный подход к анализу изменений в различных звеньях системы обеспечения организма КР, позволяет выделять 6 известных типов гипоксических состояний (гипоксическую, респираторную, анемическую, циркуляторную, нагрузочную и гистотоксическую) (18).

На основании многолетних экспериментальных исследований было предложено различать 5 степеней гипоксии.

При скрытой гипоксии (1-я степень), развивающейся при снижении давления КР во вдыхаемом воздухе, не более чем на 35 мм рт. ст. (на высоте 1000-1500 м), действие гипоксического стимула на организм незначительно, и гипоксия отмечается в отдельных ограниченных участках мышечных волокон, а ее компенсация осуществляется за счет ресурсов КР в самих мышцах без вовлечения системных (46, 48, 49). При этом скорость транспорта КР артериальной кровью к тканям адекватна кислородному запросу, и ткани не испытывают кислородного голодания (18).

Компенсированная гипоксия (2-я степень) развивается на высотах 1500-3000 м. Дефицит КР во вдыхаемом воздухе приводит в действие компенсаторные механизмы. Возрастает не только легочная вентиляция в виде увеличения минутного объема дыхания (МОД), но и также увеличивается минутный объем крови (МОК) и частота сердечных сокращений (ЧСС). Активизируется функция всей системы доставки КР и осуществляется перераспределение его резервов, улучшается кровоснабжение жизненно важных органов. Благодаря компенсаторным процессам, происходящим в организме, скорость доставки КР к тканям может оставаться неизменной (1, 17).

Субкомпенсированная гипоксия (3-я степень) развивается на высотах 3000-3500 м. В этом случае дальнейшее увеличение МОД обуславливается преимущественно учащением дыхания, дыхательного объема (ДО) и кислородный эффект дыхательного цикла уже не увеличиваются, а вентиляционный эквивалент (ВЭ) начинает снижаться. При такой гипоксии основное количество энергии для выполнения работы все еще поставляется аэробными процессами, и работа может продолжаться.

Выраженная гипоксия с наступающей декомпенсацией (4-я степень) проявляется на высотах 3500-7000 м (содержание КР в атмосферном воздухе 6-11%). Несмотря на напряженную деятельность компенсаторных механизмов, скорость доставки КР и его потребление в тканях заметно снижаются и развивается тканевая гипоксия, сопровождающаяся значительной потерей работоспособности. Из-за гипоксии мозга и миокарда нарушается действие приспособительных механизмов, что проявляется в виде брадипное и брадикардии, а также - уменьшении скорости кровотока.

Декомпенсированная или терминальная гипоксия (5-я степень) представляет собой состояние с резко замедленным дыханием, одиночными глубокими вдохами с частотой 1-3 вдоха в мин и серьезными нарушениями центральной гемодинамики, приводящими, в итоге, к летальному исходу (17, 18).

Несмотря на тяжелые последствия гипоксии

ческих состояний, кратковременное воздействие умеренных степеней гипоксии является стимулирующим фактором аэробного обмена в большинстве органов и тканей и, повышая общую неспецифическую резистентность организма, способствует развитию адаптации к неблагоприятным воздействиям различного характера (7, 32, 35). Увеличение продолжительности воздействия гипоксии или резкое повышение силы этого воздействия, зависящее от степени снижения давления КР во вдыхаемом воздухе, неизбежно приводит к различного рода функциональным расстройствам и развитию патологии, например, горная болезнь и т.п. Остро развивающаяся тканевая гипоксия является наиболее опасным осложнением большинства тяжелых заболеваний. Однако периодически возникающая гипоксия той или иной степени обычна для многих форм трудовой, воинской и спортивной деятельности (13). С учетом этого обстоятельства пребывание в условиях умеренной гипоксии или повторное использование ее кратковременных или прерывистых воздействий может быть использовано в целях увеличения адаптивных свойств организма, лечения и профилактики ряда заболеваний, а также специального тренинга к условиям профессиональной деятельности (25, 30, 33).

Многие виды профессионального труда, отдельные формы воинской службы и, особенно, занятия профессиональным спортом связаны с необходимостью выполнения напряженной мышечной работы, которая резко повышает кислородный запрос и приводит в итоге к возникновению тканевой гипоксии с обратимым характером и сменяющейся значительным усилением аэробного обмена при прекращении работы или при снижении ее интенсивности (12, 22). Также к возникновению гипоксии регионального характера приводят необходимость поддержания фиксированных поз при какой-либо работе, затрудняющих кровотоки и дыхание, и значительные эмоциональные нагрузки, сопровождающиеся выбросом катехоламинов в кровь и увеличением метаболической потребности тканей в КР. Следует также отметить, что многие виды профессиональной и воинской деятельности требуют многочасового нахождения в состоянии гиподинамии в замкнутом пространстве, что на фоне отрицательных эмоций способствует развитию астенизации и падению работоспособности (36).

Весьма актуальной проблема гипоксии и адаптационных механизмов является также для профессионального спорта, так как усиленные тренировки, нацеленные на достижение спортивных результатов, связаны с необходимостью выполнения напряженной мышечной работы, резко повышающей кислородный запрос и приводящей к возникновению тканевой гипоксии, имеющей обратимый характер и сменяющейся

значительным усилением аэробного обмена при прекращении работы или при снижении ее интенсивности (8, 11, 44). В данном контексте особый интерес приобретает "гипоксия нагрузки".

Гипоксия нагрузки (ГН) - постоянный спутник человека на протяжении всего жизненного цикла, исключая периоды вынужденной акинезии. Роль адаптации к ней в развитии функциональной системы дыхания, аэробной и анаэробной производительности и связанной непосредственно с этим работоспособности и выносливости несомненна. Однако эффект адаптации к ГН ощущается через длительные отрезки времени.

Термин "гипоксия нагрузки" в последние годы получил широкое распространение в литературе. Под ним подразумеваются гипоксические состояния, при которых повышается кислородная потребность тканей и органов при мышечной деятельности любой интенсивности. По своему содержанию этот термин, вопреки прежним представлениям, не тождествен термину "двигательная гипоксия" (по А.Б.Гандельсману). Это объясняется тем, что последняя проявляется лишь при нагрузках субмаксимальной и максимальной интенсивности и характеризуется развитием артериальной гипоксемии и тканевой гипоксии с повышенным содержанием лактата в крови и сниженным рН (6, 42). Несмотря на это, в ряде источников и сегодня встречаются термины "двигательная гипоксия" и "сверхутилизационная гипоксия", под которыми авторы подразумевают ГН.

Многие виды спортивной деятельности приводят к развитию гипоксических состояний организма, соответствующих ГН (17, 21, 24), а некоторые из них неизбежно протекают на фоне выраженного дефицита КР в организме, который восполняется лишь в восстановительном периоде.

ГН сопровождается рядом характерных признаков: дефицитом кислорода и кислородным "долгом", снижением напряжения КР в мышечной ткани и смешанной венозной крови, накоплением недоокисленных продуктов обмена в крови, сдвигом рН и нарушением кислотно-щелочного равновесия, увеличением избыточного выделения углекислого газа на фоне многократного повышения скорости утилизации КР в тканях (2).

При любой активизации функций требуются дополнительные затраты энергии в связи с повышением кислородного запроса клеток, тканей, органов и организма в целом, а скорость доставки КР к клеткам увеличивается еще не настолько, чтобы удовлетворить повысившуюся потребность в КР из-за временной задержки усиления притока крови. Работающие мышцы получают КР из крови, что значительно обедняет венозную кровь: содержание КР в ней, ее насыщение КР и Н-КР в ней резко снижаются, проявляется венозная гипоксемия - первый признак ГН.

Таким образом, ГН является результатом несоответствия между возрастающим кислородным запросом клеток и текущим потреблением КР работающими мышцами. ГН прежде всего проявляется на клеточном уровне и является неизбежным в начале любой мышечной работы, также, как и при резком увеличении мощности работы в процессе выполнения какого-либо спортивного упражнения, что сопровождается возрастающим уровнем кислородного запроса и повышением скорости доставки КР к работающим мышцам (49).

В соответствии с современными представлениями, преобразование энергии в процессе мышечного сокращения зависит от количества расщепляющихся молекул АТФ адекватно выполняемой внешней работе (10, 41, 43). Конечные продукты АТФ-азной реакции (АДФ и неорганический фосфат) выступают в роли основных регуляторов активности внутриклеточных биоэнергетических процессов, ответственных за ресинтез АТФ в количествах, соответствующих скорости ее распада при выполнении мышечной работы.

После того как резерв КР крови исчерпывается, он мобилизуется из миоглобина, а при его недостатке для ресинтеза АТФ используется креатинфосфат (КрФ), энергия анаэробного гликолиза, образуются лактат, недоокисленные продукты, снижается рН, проявляются все последствия тканевой гипоксии, и лишь после того, как скорость доставки КР начнет возрастать, включается процесс окислительного фосфорилирования, длительно обеспечивающий работающие мышцы необходимой энергией.

При развитии гипоксии в работающих мышцах снижается функциональная активность гладких мышц прекапилляров и метартериол, которые при низком Н-КР компенсаторно расслабляются, что в свою очередь вызывает рабочую гиперемия, перераспределение кровотока и увеличение доставки КР к работающим мышцам при выполнении упражнений (39, 43).

Доставка КР к клеткам определяется разнообразными факторами, такими, как диффузные параметры ткани, объем и линейная скорость кровотока в капиллярах, плотность, радиус и длина капилляров, Н-КР в артериальной и венозной крови, а также сродство гемоглобина к КР, зависящее от его содержания в крови, состояние кислотно-щелочного равновесия и тканевое напряжение углекислого газа. Скорость утилизации КР в тканях зависит также от содержания и структурных особенностей миоглобина, и на конечном этапе транспорта КР в тканях - от кинетики взаимодействия КР с дыхательными ферментами в митохондриях работающих мышц. Изменение содержания миоглобина и его распределения в мышечных волокнах имеет определенное значение не только для более равномерно-

го расходования КР при пульсирующем кровотоке в мышцах, но и для ускорения переноса КР к мышечным волокнам (3, 16).

При интенсивной мышечной деятельности может возникать несоответствие между скоростью поэтапной доставки КР и высоким кислородным запросом тканей даже в условиях максимальной активизации всех кислородно-транспортных звеньев. В таких случаях либо во всей массе ткани, либо на отдельных ее участках возникают области низкого напряжения КР - гипоксические участки, в которых низкое Н-КР ограничивает его утилизацию и скорость образования АТФ, начинается образование недоокисленных продуктов обмена, изменяется кислотно-щелочное состояние и ионное равновесие, что, в итоге, оказывает влияние на состояние клеточных и митохондриальных мембран, на активность дыхательных ферментов и на эффективность процесса окислительного фосфорилирования. При интенсивной мышечной деятельности гипоксические участки занимают все больший объем мышечного волокна, и это определяет возрастание уровня потребления КР и ограничивает скорость ресинтеза АТФ и КрФ при работе (21, 23).

Локальная тканевая гипоксия, сопровождающаяся снижением фосфатного потенциала и повышением редукции цитохрома С, ограничивает возможности увеличения потребления КР на данном участке ткани (6). Безусловно, важным компенсаторным механизмом, повышающим способность организма утилизировать КР, являются изменение концентрации и активности дыхательных ферментов в самих работающих мышцах, что доказано во многих экспериментальных работах (34).

Степень ГН, при которой прежде всего мобилируются резервы КР, а по их исчерпании используется энергия анаэробных источников, называется скрытой или латентной ГН (61, 74). Данная форма гипоксии развивается при нагрузке малой интенсивности и практически не отражается на общей скорости потребления КР в организме в целом (10). При мышечной деятельности умеренной интенсивности общий объем мышечной массы, где имеет место развитие гипоксического состояния и уровень Н-КР в зоне худшего снабжения тканей КР зависит от того, насколько увеличивается общая объемная скорость кровотока и какое количество капилляров активизируется в мышцах.

При продолжающейся работе в результате активизации компенсаторных механизмов, обеспечивающих усиление доставки КР и ее соответствие кислородному запросу работающих мышц, ГН становится компенсированной. Основным признаком компенсированной ГН служат венозная гипоксемия и снижение Н-КР в тканях, однако его уровень все еще превышает

критический для мышечной ткани, и поэтому возможность увеличения потребления КР мышечными волокнами неограниченна. Деятельность компенсаторных механизмов и кислородные режимы организма (КРО) при этой степени ГН отличаются высокой эффективностью и экономичностью. Усиление легочной вентиляции обеспечивается не только учащением дыхания, но и значительным увеличением ДО, увеличивается отношение альвеолярной вентиляции к минутному объему дыхания (АВ/МОД), снижается ВЭ (объем вентилируемого в легких воздуха, необходимый для утилизации 1л КР) и повышается кислородный эффект каждого дыхательного цикла (мл О₂ потребляемые организмом за один дыхательный цикл). Происходит и увеличение МОК, выбрасываемого сердцем в сосудистое русло в результате компенсаторного учащения сердечных сокращений и благодаря увеличению систолического объема (СО), увеличивается артериовенозное различие по КР, снижается гемодинамический эквивалент (объем циркулирующей крови, обеспечивающий потребление 1л КР), растет объем потребленного КР за один сердечный цикл. Поддержание уровня Н-КР в пределах, критических для мышечной ткани значений, обеспечивается за счет многократно возрастающей скорости поэтапной доставки КР в связи с увеличением МОД и МОК, перераспределения кровотока и, в итоге, обеспечения работающих мышц 80% объема циркулирующей крови и доставляемого КР (14, 26, 27).

Если интенсивность мышечной работы нарастает, и скорость поэтапной доставки КР не может быть адекватно увеличена так, чтобы полностью удовлетворить потребность организма в КР, включается дополнительный источник энергии - анаэробный гликолиз, что происходит на, так называемом, пороге анаэробного обмена. Поступившая в легкие венозная кровь со значительно более низким, чем в покое, содержанием КР и повышенным количеством СО₂ не успевает полностью насытиться КР. Кроме того, из-за шунтирования крови в легких определенная часть смешанной венозной крови с низким содержанием в ней КР примешивается к артериализированной в легких крови (40).

Таким образом, насыщение артериальной крови КР и Н-КР в ней снижаются, т.е. начинает проявляться артериальная гипоксемия. Все же при ГН этой степени - субкомпенсированной гипоксии - основное количество энергии для выполнения работы все еще поставляют аэробные процессы, и работа может продолжаться. При субкомпенсированной ГН дальнейшее увеличение МОД обуславливается преимущественно учащением дыхания, при этом ДО и кислородный эффект дыхательного цикла уже не увеличиваются, ВЭ начинает снижаться, также отмеча-

ются отсутствие увеличения систолического объема и более выраженный прирост ЧСС, а в крови начинает повышаться содержание лактата (50). Если МОК и количество открытых капилляров при мышечной деятельности высокой интенсивности будут такими же, как и при нагрузке умеренной интенсивности, то объем мышечного волокна с резко сниженным Н-КР (менее 6 мм рт. ст.) будет занимать более трех четвертей общего объема волокна. В центральной его части Н-КР достигнет значений ниже 4 мм рт. ст., а в зоне наихудшего снабжения - менее 1 мм рт. ст. В этом случае кислородный запрос в целом будет удовлетворяться всего лишь на 50%. Но даже в случае повышенной деятельности компенсаторных механизмов, т. е. полного раскрытия капилляров и увеличения минутного объема крови до 30 - 32 л/мин, в трети объема мышечных волокон интенсивность аэробного синтеза АТФ все еще будет существенно понижена, и будет образовываться кислородный долг, величина которого может составлять до 20% от общего кислородного запроса.

Проведенные расчеты и экспериментальные исследования свидетельствуют о том, что при нагрузке большой интенсивности обязательно образуется кислородный долг, т. е. в этом случае локальная гипоксия здесь без сомнения имеет место, но объем гипоксических участков в общей массе мышечной ткани будет зависеть от активности компенсаторных механизмов (9).

При высокой эффективности механизмов компенсации кислородный долг хоть и образуется, но он будет невелик, и реальная скорость потребления КР может быть достаточно высокой (до 3500 мл/мин и более). Эта степень развивающейся гипоксии получила название "выраженной гипоксии с наступающей декомпенсацией" (17). В случае большей интенсивности мышечной деятельности, когда организм уже не в состоянии обеспечить соответствие поэтапной доставки КР его кислородному запросу, проявляется четвертая степень ГН - декомпенсированная или терминальная гипоксия. При данной степени гипоксии ДО и СО уменьшаются, а частота дыхания и ЧСС достигают максимальных величин, кислородные режимы организма становятся менее эффективными и экономичными, вентиляционный эквивалент растет, а кислородный эффект каждого дыхательного цикла снижается, уменьшается и кислородный эффект каждого сердечного цикла. Растущий кислородный долг, нарастающий ацидоз, повреждающее действие последствий тканевой гипоксии на мембраны и органеллы клеток заставляют прекратить работу.

Следует также учесть, что значение МОК, принятое в расчетах 40 л/мин, может быть зарегистрировано лишь у спортсменов очень высокого класса (8). Меньший МОК приведет к боль-

шему снижению Н-КР в венозной крови, к более выраженному увеличению гипоксической области в мышечных волокнах и к существенному возрастанию величины образующегося кислородного долга. Локальная гипоксия миокарда, в свою очередь, ограничивает возможности ударного и минутного объемов крови, а большие энергетические затраты на работу дыхательных мышц делают нерациональным дальнейшее усиление дыхания. Развивающаяся артериальная гипоксемия и венозная гиперкапния, выраженный метаболический ацидоз и снижение запасов АТФ по ходу работы приведут к резкому ограничению работоспособности и отказу от выполнения упражнения с заданной интенсивностью (9). Следует подчеркнуть, что степень выраженности ГН не строго соответствует интенсивности мышечной деятельности.

Проявление гипоксии зависит не только от повышения кислородного запроса, но и от активности компенсаторных механизмов, направленной на увеличение доставки КР. В зависимости от того, насколько увеличивается объемная скорость кровотока, улучшаются диффузные параметры и повышается скорость доставки КР непосредственно к митохондриям, будет изменяться также и скорость утилизации в них КР и значение Н-КР. При нагрузке одной и той же интенсивности может иметь место как компенсированная, так и выраженная гипоксия. При общем высоком уровне потребления КР в отдельных участках ткани при нагрузке возникают области с низким уровнем окислительных процессов, что является причиной образования кислородного долга и развития гипоксии определенной степени (21).

Таким образом, основным звеном в генезе ГН является локальная тканевая гипоксия, характеризующаяся неравномерным распределением Н-КР в ткани и образованием зон со значениями Н-КР ниже, так называемого, "критического" уровня (18).

Кроме данных, полученных на митохондриальном и клеточном уровнях, свидетельствующих о наличии локальной гипоксии, доказательством развития состояния гипоксии при нагрузке является образование кислородного долга, ограничение скорости ресинтеза АТФ и исчерпание запасов макроэргических соединений в работающих мышцах, а также появление недоокисленных продуктов, например избытка молочной кислоты и сдвига рН (2, 40).

Артериальную гипоксемию нельзя считать обязательным признаком ГН, но неотъемлемым ее признаком является снижение Н-КР в венозной крови (венозная гипоксемия) и тканях (вторичная тканевая гипоксия). Такие состояния возникают, когда в результате несоответствия между скоростью доставки КР и потребностью в нем

клеток, Н-КР в тканях и клетках снижается ниже "критического" уровня, активность дыхательных ферментов падает, скорость потребления КР снижается, уменьшается образование макроэргов и накапливаются недоокисленные продукты, повышается напряжение CO_2 в тканях и венозной крови (19).

Значительное влияние на развитие гипоксических состояний при мышечной работе оказывает также активность и функциональное состояние кардиореспираторных систем организма. Возбуждение дыхательного центра под воздействием недостатка КР приводит к учащению дыхательного ритма и возрастанию дыхательного объема, что в свою очередь обеспечивает усиление легочной и альвеолярной вентиляции. Последнее обстоятельство, благодаря увеличивающейся функциональной емкости легких, способствует возрастанию их диффузной поверхности, что сопровождается повышением доли альвеолярной вентиляции в минутном объеме дыхания. Увеличение легочной и альвеолярной вентиляции обеспечивает выделение CO_2 . В результате этого становится возможным поддержание парциальных давлений этих газов в альвеолярном воздухе и артериальной крови на уровнях, близких к значениям покоя, при этом происходит восполнение запасов КР в артериальной крови (20, 28).

Возбуждение рецепторов кардио-васкулярного центра под воздействием гипоксии вызывает учащение сердечных сокращений и приводит к увеличению ударного и минутного объемов крови, что обеспечивает повышение скорости переноса КР артериальной кровью. Увеличению ударного объема способствует ускорение венозного возврата крови от работающих мышц. Усиление кровотока в работающих мышцах обеспечивается раскрытием резервных капилляров в результате расслабления гладких мышц прекапилляров и метатериол (39). Благодаря этому скорость доставки КР к работающим мышцам увеличивается, Н-КР в мышечных волокнах повышается, улучшаются условия для клеточного дыхания и для синтеза АТФ (4, 16). Деятельность перечисленных выше механизмов направлена на компенсацию гипоксии при нагрузке. Степень выраженности гипоксии и изменение состояния работоспособности при физических нагрузках зависят от величины кислородного запроса работающих мышц и от эффективности функционирования компенсаторных механизмов организма, направленных на уменьшение развивающейся при работе гипоксии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абсалямов Т. М., Красников А.Ф. М.: ФиС, 1984, N.5, с.25;
2. Алтухов Н.Д., Волков Н.И., Конрад А.Н. - Физиология человека, 1983, т.9, с.307-315;
3. Архипенко Ю.В. - В кн.: Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция. М., 1997, с.7;
4. Архипенко Ю.В. - Там же, 1999 с.6;
5. Ахундов Р.А. - Биомедицина, 2003, N.1, с.12-

17; 6. Волков Н. И. - В кн.: Гипоксия нагрузки. Математическое моделирование, прогнозирование и коррекция. Киев.: АН УССР, 1990, с.13-14; 7. Булгакова Н.Ж., Волков Н.И., Соломатин В.Р. и др. - Теория и практика физической культуры, 1981, N.4, с.31-33; 8. Волков Н.И. - В кн.: Мат-лы 3-й Международного конгресса "Теория деятельности и социальная практика". М.: Физкультура, образование, наука, 1995, с. 27; 9. Волков Н. И., Коваленко Е. А. - В кн.: Интервальная гипоксическая тренировка, эффекты, механизмы действия. Киев, 1992, с.4; 10. Волков Н. И., Колчинская А. З. - Ж. гипоксической медицины, 1993, N.2, с.30; 11. Волков Н.И., Сметанин В.Я. - Вестн. спорт. медицины России, 1997, N.2, с.73; 12. Волков Н.И., Дардур У., Сметанин В.Я. - В кн.: Тенденции развития спорта высших достижений и стратегия подготовки высококвалифицированных спортсменов в 1997-2000 гг. М., 1997, с.124-132; 13. Волков Н.И., Карасев А.В., Хосни М. Теория и практика интервальной тренировки в спорте. М.: Военная академия им. Ф.Э. Дзержинского, 1995; 14. Карпман В.Л., Белоцерковский З.Б., Гудков. Тестирование в спортивной медицине. М.: ФиС, 1988; 15. Коваленко Е. А. - Ж. гипоксической медицины, 1993, N.1, с.3-5; 16. Колесова Г.М. - В кн.: Митохондрии. М., 1998; 17. Колчинская А. З. - Патол. физиология эксперим. терапии, 1981, N.4, с.3-10; 18. Колчинская А.З. Вторичная тканевая гипоксия. Киев: Наукова думка, 1983; 19. Колчинская А. З. - Теория и Методика Физического Воспитания, 1990, N.4, с.39-42; 20. Колчинская А. З. Гипоксия нагрузки, математическое моделирование, прогнозирование и коррекция. Киев: АН УССР, 1990; 21. Колчинская А. З. Кислород. Физическое состояние. Работоспособность. Киев: Наукова думка, 1991; 22. Колчинская А.З. - Ж. гипоксической медицины, 1993, N.2, с.36; 23. Колчинская А.З. и др. Кислородная недостаточность, десструктивное и конструктивное действие. Нальчик, 1999; 24. Колчинская А. З., Филипов М.М. - В кн.: Спорт в современном обществе. М., 1980, с.125-126; 25. Кондрашева М.Н. - В кн.: Гипоксия нагрузки, математическое моделирование, прогнозирование и коррекция. Киев, АН УССР, 1981, с.30; 26. Кузнецова В.К., Любимов Г.А. - В кн.: Физиология дыхания. - СПб.: Наука, 1994, с.54-104; 27. Кузнецова В.К., Агапезова Е.С., Яковлева Н.Г. и др. Методика проведения и унифицированная оценка результатов функционального исследования механических свойств аппарата вентиляции на основе спирометрии. СПб., 1996; 28. Логунова Л.В. - В кн.: Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция. М., 1997, с.73; 29. Лукьянова Л. Д. Физиологические проблемы адаптации. Тарту, 1984, с.128-131; 30. Лукьянова Л.Д. и др. - В кн.: Прерывистая нормобарическая гипоксия-

терапия. М., 1999, с.139; 31. Меерсон Ф.З. Адаптационная медицина: механизмы и защитные эффекты адаптации. М.: Нурохиа Medical, 1993; 32. Меерсон Ф.З., Твердохлиб В.П., Боев В.М., Фролов Б.А. Адаптация к периодической гипоксии в терапии и профилактике. М.: Наука, 1989; 33. Моногаров В. Д. - В кн.: Научно-методические основы подготовки спортсменов высокого класса. Киев, 1980, с.232-235; 34. Моногаров В. Д. - ТИМФВ, 1990, N.4, с.43-46; 35. Полуяктова С.К. Мобилизация липидных источников энергообеспечения при мышечной деятельности аэробного характера: Автореф. канд. дис. СПб., 2002, с.22; 36. Рогозин В.А., Назаров И.Б., Казаков В.М. - Теория и практика физкультуры, 2000, N.12, с.34-36; 37. Селье Г. Стресс без дистресса. - Рига: Ваеда, 1992; 38. Суслев Ф. П., Гиппенрейтер Е. Б., Холодов Ж. К. Спортивная тренировка в условиях среднегорья. М., 1997; 39. Тхоревский В. И., Беляев Ф. П. Изменение кровоснабжения скелетных мышц при тренировке выносливости. М.: Аякс-М, 1996, 24 с.; 40. Филиппов М. М., Миняйленко Т. Д. - Укр. биохим. Ж., 1980, N.2, с.171-174; 41. Черемисин В. Н. Энергетическое обеспечение напряженной мышечной работы. М.: ГЦОЛИФК, 1982; 42. Югай Н.В. - Hypoxia Medical J., 1992, N. 2, с.17-18; 43. Яковлев Н. Н. Химия движения: Молекулярные основы мышечной деятельности. Л.: Наука, 1983; 44. Vakanychev A., Zakusilo M., Kolchinskaya A. et al. - Hypoxia Med. J., 1993, N.1, p.27-37; 45. Connett R., Gayeski T., Honig C. - J. Appl. Physiol., 1990, v.68, p.833-842; 46. Federspiel W., Popel A. - Microvase. Res., 1986, v.32, p.164-189; 47. Gayeski T., Honig C. - Amer. J. Physiol., 1987, v.252, p.906- 915; 48. Gayeski T., Honig C. - Am. J. Physiol., 1988, v.254, p.1179-1186; 49. Groebe K., Thens W. - Adv. Exp. Med. Biol., 1986, v.200, p.495-514; 50. Kolchinskaya A., Darsky A. - Hypoxia Med. J., 1993, N.1, p.10-13.

SUMMARY

Physiological aspects of tension hypoxia
R.Abdurahmanov

The review demonstrated the main physiological aspects of tension hypoxia and its negative and positive influence to human health and work capacity. This data is very actual for increasing resistance of sportsman and improving their results.

Поступила 29.10.2003

Трансфузионные вирусные гепатиты у онкологических больных

А. Э. Дадашева

Онкологический научный центр, г. Баку

В начале 70-х гг. минувшего века было показано, что HBsAg в крови больных лейкозами (ЛЗ) и солидными злокачественными опухолями (ЗО) выявляется значительно чаще, чем среди здорового населения, проживающего в тех же регионах (2). Спустя 20 лет аналогичные данные были получены и в отношении частоты выявления антител к вирусу гепатита С (ВГС) (46). Эти, многократно подтвержденные, данные послужили основанием для выделения онкологических и онкогематологических больных в самостоятельную группу высокого риска инфицирования вирусом гепатита В (ВГВ) и ВГС (7, 39).

Широта распространения этих инфекций, объединенных в группу "трансфузионных вирусных гепатитов" (ТГ), среди больных ЗО и ЛЗ, оцениваемая по частоте выявления у них специфических маркеров инфицирования вирусами ТГ (ВТГ), по оценкам различных исследователей колеблется в широких пределах. Подобная вариативность, вероятно, обусловлена их зависимостью от специфичности и чувствительности методов их индикации, от спектра определяемых маркеров, от эпидемиологических особенностей регионов, в которых проводилось исследование (региональные особенности распространения этих инфекций оказывают ощутимое влияние и на показатели инфицированности больных ЗО и ЛЗ), от размеров выборки обследуемых и ее состава по нозологиям (разновидность ЛЗ и ЗО, локализация ЗО, клиническая стадия и иммунологический статус) и др.

Обобщив данные, представленные в доступных нам источниках литературы, мы пришли к выводу о том, что в большинстве случаев частота выявления HBsAg среди онкологических больных может составлять как всего 3%, так и достигать 97%, хотя в большинстве случаев среди больных солидными ЗО он колеблется в пределах от 5% до 30%, среди больных лимфомами (ЛФ) - от 10% до 40%, а у больных ЛЗ - от 15% до 60% (24, 43, 46).

Информация о широте распространения среди онкологических больных инфекции, вызванной ВГС также неоднозначна. Согласно имеющимся в литературе данным частота выявления антител к ВГС (анти-ВГС) также колеблется в широких пределах, чаще всего составляя от 5% до 25% у больных солидными ЗО, от 10% до

40% у больных ЛФ и от 15% до 50% у больных ЛЗ (8, 9, 26, 41, 50, 52, 54, 75).

Мы обратили внимание на отмечаемые многими авторами закономерности. Одна из них состояла в том, что, в среднем, частота выявления маркеров инфицирования ВТГ у больных ЛЗ выше, чем у больных солидными ЗО, а больные ЛФ по этому показателю занимают промежуточное положение. Кроме того, среди больных ЗО и ЛЗ нередко отмечаются случаи микстинфекции, идентифицируемой по одновременному выявлению маркеров инфицирования, как ВГВ, так и ВГС.

Учитывая, что особенности распространения инфекций, вызванных ВТГ среди больных ЗО уже более 15 лет целенаправленно исследуются азербайджанскими онкологами, ниже мы остановимся на основных результатах этих наблюдений, раскрывающих ряд особенностей распространения и течения этих инфекций у больных различными ЗО.

В самом первом из них, проведенном еще в 1987-1992 гг. и охватившем более 4 тысяч серологически обследованных с помощью иммуноферментного метода больных различными ЗО и более 200 больных доброкачественными опухолями (ДО), было установлено, что частота обнаружения HBsAg у больных с ДО не имела существенного отличия от таковой у здоровых жителей г.Баку (3,5%). В то же время, у пациентов со ЗО в момент их госпитализации в стационар составила, в среднем, 15% и была в 4 раза выше, чем у здоровых лиц. Частота выявления HBsAg колебалась от 5% до 18,2% и у больных солидными ЗО и в среднем, составила 13%. В то же время у больных ЛФ этот показатель достигал 21,7% (27).

В дальнейшем серологическим исследованиям на маркеры инфицирования ВГВ были подвергнуты больные раком молочной железы (РМЖ) (45), желудка (РЖ) (1, 42), матки (РМ) и яичников (РЯ) (5), толстой кишки (1), легкого (РЛ) (48) и ЛФ (33). Было установлено, что, примерно, у 7% HBsAg-позитивных пациентов инфекция была вызвана мутантным вариантом ВГВ, дефектным по HBcAg (4).

Обследование больных ЗО для выявления анти-ВГС в г.Баку были впервые проведены в

1992 г. (33). В дальнейшем эти антитела были выявлены у больных РМЖ (3, 45), РЖ (1), РЛ (48), РМ и РЯ (5), толстой кишки (1) и ЛФ (69).

Не останавливаясь на результатах этих исследований в отдельности, приведем результаты метаанализа ранее опубликованных данных, полученных в ходе исследований, проведенных в Онкологическом научном центре в г.Баку за 1991-2000 гг. Оказалось, что усредненные показатели инфицированности ВТГ среди 2418 больных ЗО и 737 больных ЛФ составили в отношении HBsAg, примерно, 12% при ЗО и 23% при ЛФ, а в отношении анти-ВГС - 9% при ЗО и 11% при ЛФ (44).

В 2003 г. был завершен ретроспективный анализ результатов обследования почти 3 тысяч больных ЗО (РМЖ, РЛ и РЖ), показавший что HBsAg присутствовал в крови, примерно, 10% больных: около 11% из них оказались серопозитивными в отношении анти-ВГС. И вновь проявилась тенденция частоты выявления HBsAg и анти-ВГС к увеличению по мере возрастания стадии заболевания. Сравнение частоты выявления этих маркеров у больных локальными и распространенными формами этих ЗО обнаружило, что степень инфицированности у первых была ощутимо меньше, нежели у последних (11). Кроме того, в ходе этих исследований был установлен факт более частого выявления у них, по сравнению с донорами крови, антител к вирусу гепатита G (12) и наличие у части обследованных больных РНК ТТV (65).

Таким образом, несмотря на колебания показателей инфицированности онкологических больных, только приведенных выше данных, полученных зарубежными и азербайджанскими исследователями, достаточно для осознания масштабов проблемы вирусных гепатитов у данного контингента пациентов.

Широкое распространение этих инфекций среди онкологических больных ставит перед онкологами ряд важных задач, часть из которых уже частично решена.

Прежде всего, несмотря на проводимый в онкологических стационарах комплекс профилактических мероприятий, частота выявления у больных специфических маркеров инфицирования ВТГ все еще остается достаточно высокой.

Высокую инфицированность больных ЗО и, особенно, ЛЗ традиционно связывают с частыми трансфузиями крови и ее дериватов и многочисленными парентеральными манипуляциями, которым они подвергаются в процессе обследования и лечения. Более того, считается, что больные ЗО и ЛЗ более чувствительны к инфицированию биопатогенами и, в том числе, ВТГ, из-за снижения у них противоинфекционной резистентности, связанного с иммунодепрессией, обусловленной как системным действием ЗО (35), так и противоопухолевым лечением. Счита-

ется, что именно эти обстоятельства создают предпосылки для возникновения в онкологических и гематологических стационарах групповых заболеваний, наподобие типичных нозокомиальных инфекций, к которым, с известными оговорками, могут быть причислены и инфекции, обусловленные ВТГ (14, 23).

Отметим, что наряду с изложенной и доминирующей ныне точкой зрения, высказана и другая, менее известная, сторонники которой считают, что высокая инфицированность ВТГ больных ЗО может быть не следствием, а одной из причин возникновения ЗО. Ниже мы приведем важнейшие посылки, демонстрирующие право этой точки зрения на существование.

Известно, что между хроническими инфекциями, вызванными ВГВ и, особенно, ВГС, и гепатоцеллюлярным раком печени прослеживается отчетливая этиопатогенетическая связь (2). Это позволяет теоретически допустить, что эти вирусы могут вызывать и другие ЗО, тем более, что для обеих инфекций характерен целый ряд "внепеченочных проявлений" (10). Однако, если в составе генома ВГВ, обладающего, к тому же мутагенной активностью, имеется X-ген, способный, в принципе, выполнять роль молекулярного промотора (трансактиватора транскрипции) канцерогенеза, то геном ВГС вообще лишен каких-либо онкогенных элементов (30). Тем не менее, в литературе есть сведения о возможной причастности этих вирусов к отдельным ЗО: ВГВ - к опухолям поджелудочной железы (2), а ВГС - к некоторым типам ЛФ (74). Природу такой связи можно трактовать с нескольких позиций.

Согласно первой из них, интеграция генома ВГВ в геном гепатоцитов и внепеченочных клеток сопровождается изменениями первичной структуры клеточной ДНК, способными дестабилизировать геном и инициировать опухолевую трансформацию клеток (29). Эта позиция косвенно подтверждается полученными еще 15 лет назад данными о том, что между частотой возникновения нефробластомы у детей и наличием у их родителей хронического носительства HBsAg, существовала высокая корреляция (40).

Вторая позиция связывает появление ЗО не с вирусами, а с вызванными ими хроническими инфекциями, отводя им роль причины деструкции инфицированных клеток и реактивного воспаления. Некроз стимулирует компенсаторную пролиферацию соседних клеток, а среди продуктов воспаления имеются свободнорадикальные и генотоксические соединения, для которых наиболее уязвимы именно пролиферирующие клетки. Эта точка зрения согласуется с концепцией о ведущей роли в канцерогенезе нарушений тканевого гомеостаза (29). Так, возникновение ЛФ, ассоциированных с вызванной ВГС инфекцией, объясняют длительной стимуляцией вирусом

пролиферации определенной популяции В-лимфоцитов, способствующей, с одной стороны, накоплению мутаций протоонкогенов и генов-супрессоров, а с другой стороны, к развитию прогрессирующих иммунологических нарушений (73).

Сторонники третьей позиции апеллируют к многочисленным данным о том, что даже при бессимптомном, но продолжительном течении развитие этих инфекций сопровождается клинически компенсированной гепатоцеллюлярной дисфункцией, на фоне которой формируются метаболические и эндокринные сдвиги, так или иначе, способствующие повышению частоты возникновения ЗО, вообще. Эта точка зрения особенно привлекательна для объяснения причин возникновения гормонозависимых ЗО и, в частности, РМЖ (3).

И, наконец, четвертая позиция роль основной причины повышения частоты возникновения ЗО отводит иммунодепрессии, сопровождающейся угнетением противоопухолевой резистентности и, соответственно, формированием в организме предрасположенности к опухолевому росту. Такая иммунодепрессия может либо развиться вследствие присоединения иммунологических нарушений к упомянутым выше гормонально-метаболическим сдвигам ("метаболическая" иммунодепрессия), либо быть следствием аутоиммунных процессов, которые играют важную роль в патогенезе обеих инфекций ("иммунопатологическая" иммунодепрессия) (31)

Рассматривая эти аргументы в комплексе, не трудно убедиться в том, что хроническое течение обеих инфекций в определенных ситуациях действительно может привести к формированию в организме условий, прямо или косвенно, способствующих, во всяком случае, повышению вероятности возникновения ЗО и/или ЛЗ. Иначе говоря, пока нельзя исключить того, что лица с хроническими инфекциями, вызванными ВГГ, могут чаще болеть онкологическими заболеваниями.

Неоднозначность трактовок природы этого феномена указывает на необходимость дальнейшего изучения не только причин, но и эпидемиологических особенностей нозокомиального характера распространения этих инфекций в стационарах указанного профиля.

В этом контексте определенный интерес представляют результаты, полученные в ходе упомянутых выше наблюдений, демонстрирующие эпидемиологические особенности распространения инфекций, вызванных ВГГ в онкологическом стационаре.

Во-первых, при всех типах ЗО выявилась тенденция возрастания частоты выявления маркеров ВГГ по мере увеличения клинической стадии ЗО (37), что, вероятно, является следствием возрастания риска инфицирования с увеличением времени пребывания в онкологическом

стационаре, тем более, что среди ранее госпитализированных пациентов частота выявления HBsAg и анти-ВГС несколько выше, чем среди впервые госпитализируемых пациентов (11, 27),

Во-вторых, проспективное (двухкратное, с интервалом в полгода) обследование группы HBsAg-негативных больных показало, что за период между двумя исследованиями, произошло инфицирование 8,7% больных (4). В группе больных солидными ЗО частота выявления анти-ВГС класса IgM, являющихся маркерами первого контакта организма с ВГС, убывала по мере увеличения клинической стадии ЗО, что косвенно указывало на преимущественное инфицирование больных на ранних сроках пребывания в стационаре. При этом, "свежее" инфицирование ВГС было отмечено, примерно, у 10% больных (4).

В-третьих, проспективное клиничко-лабораторное наблюдение за группами HBsAg-положительных больных и серопозитивных по отношению к ВГС больных показало, что у абсолютного большинства больных инфекции носили хронический характер, причем, примерно, у трети инфицированных больных субклиническая инфекция сопровождалась репликацией ВГВ (4, 27).

В-третьих, среди больных ЗО инфекция протекала преимущественно в субклинических формах. Еще 15 лет назад в нашей клинике было показано, что с увеличением стадии РМЖ частота выявления HBsAg и HBeAg заметно возрастала, а частота выявления анти-HBs - снижалась. Иначе говоря, по мере возрастания запущенности РМЖ происходило учащение случаев перехода инфекции в хроническую форму с продолжительной репликацией вируса. Было также установлено, что с увеличением стадии РМЖ доля случаев затяжного течения инфекции (в среднем, составившая около 75% всех инфицированных) ощутимо возрастала, доля случаев острого течения инфекции снижалась. Последнее косвенно указывало на то, что у большинства больных заражение имело место уже в прошлом - либо на более ранних стадиях заболевания, либо до его начала (2).

Учитывая большое сходство путей распространения ВГВ и ВГС, можно полагать, что распространение инфекции, вызванной ВГС у онкологических больных, мало отличалось от такового у инфекции, вызванной ВГВ.

Сегодня можно уверенно говорить о том, что инфекции, вызванные ВГГ у больных ЗО, как и у инфицированных этими вирусами здоровых лиц, могут протекать как в клинически манифестных (в виде желтушных и безжелтушных форм), так и в субклинических (инаппарантных) вариантах. Поэтому важное клиничко-эпидемиологическое значение приобретает вопрос об особенностях соотношения этих форм инфекций у дан-

ного контингента больных, тем более, что у них может отмечаться широкий спектр клинических форм, как по характеру течения (от легких типичных до тяжелых холестатических, так и по временным показателям инфекционного процесса (от острых до хронических).

Необходимо подчеркнуть, что разные исследователи, изучавшие этот вопрос, приводят разные, а иногда и противоречивые результаты. Возможно, что такая неоднозначность суждений связана с разницей в составе обследованных больных, как по типу онкологического заболевания, так и по условиям проведения исследований. В частности, по одному мнению (46), наличие и выраженность клинических проявлений гепатитов В (ГВ) и С (ГС) или их отсутствие у пациентов с ЗО прямо зависит от цели и методов выявления инфицированных: если при обычном клиническом наблюдении у них выявляются лишь манифестные формы гепатитов, то при целенаправленном лабораторном скрининге абсолютно преобладают безжелтушная и субклинические (инаппарантные) формы (4, 27).

Здесь же следует отметить, что существует 2 противоположных мнения по поводу преобладающих форм течения ГВ и ГС у больных ЗО и ЛЗ. Сторонники одной из точек зрения приводят данные, согласно которым среди регистрируемых у данного контингента больных клинически манифестных форм ГВ и ГС преобладают среднетяжелые и тяжелые формы (49, 68). Высказано предположение, что развитие тяжелых форм ГВ связано с инфекцией, вызванной мутантным (дефектным по HBeAg) штаммом (7, 58). Согласно второму мнению, наиболее часто у больных ЗО течение ГВ отличается скудностью и малой выраженностью клинических проявлений, преобладанием безжелтушных форм с умеренной гиперферментемией (53, 54, 61, 71, 72).

В проведенных в нашей клинике наблюдениях за большой группой HBsAg-позитивных больных РМЖ было установлено, что инфекция протекала: в желтушной форме - в 6,9% (частота ее регистрации убывала по мере увеличения стадии РМЖ), в безжелтушной форме, сопровождавшейся небольшим повышением билирубина (23,3%), в инаппарантной форме, с умеренной гиперферментемией (55,1%) и в форме "здорового" вирусоносительства - в 14,7% случаев (2).

Из изложенного ясно, что во всяком случае, течение ГВ и ГС у указанного контингента имеет отличия от такового у здоровых лиц, инфицированных этими вирусами. В основе такого патоморфоза клинически манифестных форм ГВ и ГС, отмечаемого, как правило, у небольшой части больных ЗО, лежит специфика фона, на котором они протекают, поскольку, печень этих пациентов подвергается воздействию многих патогенных факторов. Не удивительно, что эти инфек-

ции отличаются необычным течением и своеобразием клинико-лабораторных проявлений, которые значительно затрудняют не только распознавание, но и лечение этих заболеваний.

Особенности патогенеза и механизмов формирования морфологического субстрата при клинических формах этих инфекций у больных ЗО обусловлены, с одной стороны, иммунокомпromетацией большинства этих больных и, с другой стороны, развитием инфекционного процесса в условиях дополнительных токсических воздействий на печень.

Как известно, клинические проявления, характер течения и тяжесть ГВ и, в меньшей степени, ГС у каждого конкретного пациента определяются интенсивностью иммунного ответа. Поскольку больные ЗО отличаются сниженной реактивностью, можно было бы ожидать преобладания у них вялотекущих форм этих инфекций (2, 3, 11).

В силу этих обстоятельств инфицированные ВГТ больные ЗО должны быть признаны особым контингентом в том отношении, что повреждение печени у них обусловлено двумя главными факторами: иммунообусловленным цитопатическим действием вирусов и цитотоксическим действием химиопрепаратов. Ясно, что в этих условиях характер клинических проявлений, главным образом, будет прямо зависеть от соотношения этих факторов у каждого конкретного пациента. Кроме того, у части больных ЗО имеется метастатическое поражение печени, способное привносить свой "вклад" в формирование комплекса клинических проявлений. И, наконец, наличие у большинства больных ЗО и, особенно, ЛЗ иммунодепрессии и, в том числе, сниженной противoinфекционной резистентности, которая детерминирует их высокую подверженность вторичным инфекциям и, в том числе, сопровождающимся поражением печени (гепатиты герпетической, цитомегаловирусной, микотической и, даже бактериальной этиологии) (2).

Все это позволяет понять причины широкого разнообразия вариантов течения клинических форм этих инфекций, среди которых преобладают безжелтушные, субклинические и инаппарантные формы, хотя у части пациентов они могут протекать в тяжелых формах. К этому надо добавить и то, что клиническая картина ГВ и ГС у больных ЗО, по видимому, зависит от ряда факторов и, в первую очередь, момента инфицирования по отношению ко времени проведения химиотерапии (ХТ): если инфицирование происходит на фоне ХТ, то гепатит протекает субклинически, несмотря на высокую виремию, так как в условиях толерантности к вирусу печень поражается незначительно из-за связанной с ХТ преходящей иммуносупрессии и, соответственно, снижения интенсивности иммуноопосредованного разру-

шения гепатоцитов, хотя распространение инфекции в паренхиме печени *per continuitatem* продолжается. Прекращение же ХТ "снимает" иммуносупрессию, и аутоиммунное разрушение инфицированных гепатоцитов возобновляется, а течение гепатита приобретает тяжелый характер (46).

С другой стороны, описаны наблюдения, в ходе которых проведение ХТ приводило к реактивации инфекции в виде появления HBeAg у больных, ранее не имевших его (27), и ухудшения течения предшествовавшего хронического ГВ (71).

И, наконец, многие авторы подчеркивают низкую частоту элиминации вирусов, в которой, вероятнее всего, можно видеть причину высокой частоты хронизации обеих инфекций (22, 25). Так, в одном из наблюдений среди HBsAg-позитивных больных за полгода сероконверсия была выявлена лишь у четверти из них, причем, почти у 80% были начальные стадии ЗО (4). В другом наблюдении элиминация РНК ВГС не была отмечена ни в одном случае (57). Существенной особенностью развития этих инфекций у больных ЗО является и высокая частота регистрации их первично-хронических форм с минимальными морфологическими изменениями в печени. (46).

Наряду с изложенным выше, сегодня безоговорочно признается, что у большинства инфицированных больных ЗО эти инфекции протекают в субклинических формах.

Особенности течения субклинических форм этой инфекции у онкологических больных до внедрения в клиническую практику высокочувствительных методов ее индикации оставались изученными в меньшей степени. Между тем, сегодня известно, что эти формы ВГГ не менее опасны как в эпидемиологическом (больные с невыявленной инфекцией, не будучи своевременно изолированы, представляют собой потенциальный источник рассеяния инфекции в стационаре), так и в катамнестическом (в силу существования возможности неблагоприятного влияния на основное заболевание) отношениях.

Диагностика клинических форм ВГГ у онкологических больных сопряжена с немалыми сложностями и, особенно, среди больных получающих ХТ - большинство отмечаемых у таких больных клинико-лабораторных проявлений (увеличение печени, желтуха, различные признаки интоксикации, гиперферментемия и др.) в равной степени могут быть связаны как с инфекционным поражением печени, так и с побочным гепатотоксическим воздействием ХТ.

Еще сложнее дело обстоит с точной этиологической диагностикой субклинических форм этих инфекций и, прежде всего, инфекции, вызванной ВГС, поскольку молекулярные методы, необходимые для объективной оценки ее патоген-

нетической формы, пока не нашли столь широкого распространения, как серологические (15).

Более того, известно, что такой традиционный диагностический критерий, как повышение активности АлАТ, не может быть использован в качестве надежного критерия диагностики и контроля за течением этих инфекций у онкологических больных в силу того, что, во-первых, корреляция между репродукцией вирусов и активностью "печеночных" ферментов у большинства пациентов отсутствует, независимо от наличия ХТ и, во-вторых, у инфицированных онкологических больных достаточно часто отмечаются субклинические формы, протекающие с постоянным или периодическим повышением активности аминотрансфераз (46).

С точки зрения онколога эти инфекции представляют собой особый практический интерес, прежде всего, в качестве интеркуррентной патологии.

Во-первых, у значительной части больных, инфицированных ВГГ, отмечаются клинически манифестные и, особенно, субклинически протекающие дисфункции печени (3, 66). Наличие же у них даже торпидно текущего хронического гепатита или, даже, субклинической гепатопатии, в форме гиперферментемии, способно усугублять токсическое лекарственное поражение печени, закономерно возникающее при проведении ХТ. Так, в целом ряде наблюдений показано существование прямой взаимосвязи между этими инфекциями и частотой и выраженностью большинства отмеченных у больных токсических проявлений ХТ (11).

Иначе говоря, наличие указанных инфекций может выступать как фактор, повышающий частоту и тяжесть побочных токсических проявлений ХТ и, соответственно, способный не только снижать качество жизни больных во время и вскоре после ХТ, но и лимитировать ее объем, а в ряде случаев, и возможность ее проведения вообще (13).

Во-вторых, в ряде исследований и, в том числе, проведенных в нашей клинике, установлено, что хронические инфекции, вызванные ВГГ, протекая у онкологических больных, сопровождаются усугублением отмечаемой у них иммунодепрессии и, в том числе, естественной противоопухолевой резистентности, а также повышением интенсивности аутоиммунных процессов (17, 55, 64). Помимо этого, на более глубокую иммунодепрессию у инфицированных ВГВ онкологических больных указывают и данные о более частом их инфицировании вирусом цитомегалии (6) и возбудителем легочного пневмоцистоза (36). Поскольку именно состояние иммунологической реактивности во многом предопределяет характер течения ЗО и ЛЗ, в этой ситуации логично ожидать более агрессивного развития

этих заболеваний. Это ставит задачу, выяснив основные механизмы реализации такого влияния инфекций на иммунитет (и установив ее связь с персистенцией вирусов или с гепатоцеллюлярной дисфункцией), исследовать возможность его лекарственной коррекции с помощью современных иммуностимулирующих средств (11).

В-третьих, при лечении инфицированных ВГВ больных ЗО может возникнуть необходимость, из-за угрозы развития печеночной недостаточности, прервать ХТ, что, в свою очередь, препятствует проведению лечения в нужном объеме и, соответственно, повышает частоту рецидивов онкологического заболевания (47, 56, 62).

Кроме того, в ряде клинических наблюдений продемонстрировано, что персистентная инфекция, вызванная ВГВ у больных некоторыми ЗО (РМЖ, РМ и РЯ) и ЛФ, сопровождалась ухудшением непосредственных результатов лечения в виде снижения частоты объективного эффекта терапии (2, 13, 16, 21, 63). Подобное действие инфекции, вызванной ВГВ, документировано у больных РМЖ, РМ, РЯ и у больных ЛФ (34, 69), а вызванной ВГС - у больных РМЖ (51) и ЛФ (16).

И, наконец, в проведенном в нашей клинике наблюдении впервые было показано, что персистентная HBs-антигемия у больных РМЖ оказывает негативное влияние на отдаленный прогноз заболевания в виде сокращения средней продолжительности жизни пациентов (27).

Эти данные ставят на повестку ряд вопросов о способности указанных инфекций оказывать неблагоприятное влияние не только на течение, но и прогноз других онкологических заболеваний (28). Не менее важен и вопрос о возможности ослабления такого влияния этих инфекций, которое позволило бы повысить эффективность лечения основного заболевания.

И, наконец, хронические инфекции, вызванные ВГВ и ВГС у онкологических больных, таят в себе угрозу их здоровью, поскольку в дальнейшем могут вызвать у них развитие цирроза печени (46).

Этиопатогенетическое лечение ГВ и ГС у онкологических больных представляет собой весьма важную, но практически не исследованную проблему. Можно выделить два основных компонента такого лечения: противовирусная терапия и гепатотропное лечение.

Как известно, безальтернативную основу современного лечения хронических ГВ и ГС составляет применение препаратов альфа-интерферона (ИНФ), однако сведения об их успешном применении с целью терапии вирусных гепатитов у больных ЗО ограничены лишь единичными сообщениями (18, 19, 59, 60), в числе которых и сообщение об успешном применении альфа-ИНФ в нашей клинике при лечении инфицированных ВГВ больных РМЖ (38). Учитывая, что

ИНФ обладает способностью стимулировать противоопухолевую и противометастатическую резистентность, и нашел применение в онкологии при ряде ЗО, можно полагать, что применение этих препаратов в указанных целях следует признать не только в достаточной степени обоснованным, но и полезным (20).

Вторым, весьма важным, компонентом такого лечения является применение гепатотропных средств (гептрал, урсофальк, зиксорин и др.), облегчающих проведение ХТ в полном объеме и способных предотвратить развитие острой печеночной недостаточности. Уже сегодня есть основания надеяться, что их использование окажется целесообразным не только для коррекции проявлений печеночной токсичности, но и для ослабления негативного влияния инфекций и гепатоцеллюлярной дисфункции на эффективность лекарственной терапии онкологических больных (11).

Масштабность проблемы ГВ в онкологической клинике с определенностью демонстрирует важное утилитарное значение их профилактики, повышения эффективности которой сегодня можно добиться, развивая три ее направления.

Первое состоит в повышении эффективности методов дезинфекции и стерилизации медицинских инструментов и оборудования (4). В условиях повсеместного использования одноразовых режущих и колющих инструментов и рационального применения современных дезинфектантов риск инфицирования больных контаминированными инструментами практически сведен к нулю.

Второе направление основано на вакцинации против ВГВ больных, поступающих в онкогематологические стационары. Однако, вопрос об эффективности вакцинации у больных ЗО окончательно не решен и, наряду с сообщениями о ее успешном применении и протективном эффекте, имеется немало публикаций, авторы которых высказывают сомнения в ее целесообразности, поскольку имеющаяся у больных ЗО иммуносупрессия, усугубляющаяся в ходе ХТ, препятствует формированию полноценного протективного эффекта вакцинации. Тем не менее, это направление все же остается перспективным и позволяет надеяться на успех, тем более, что в литературе есть указания о возможности повышения эффективности вакцинации путем более частого применения более высоких доз антигенов или введения вакцин в комбинации с модификаторами иммунного ответа (67, 70).

Третье направление - повышение эффективности тестирования переливаемой крови и ее препаратов. Поскольку серологическая диагностика гепатитных инфекций у больных ЗО существенно затруднена из-за, во-первых, снижения интенсивности синтеза антител, и в том числе, к антигенам ВГВ и ВГС и, во-вторых, наруше-

ния естественного соотношения и последовательности появления маркерных антигенов и антител. Это указывает на необходимость пересмотра вопроса о применимости традиционных подходов к выявлению этих инфекций у онкологических больных. В силу этого в диагностике этих инфекций у данного контингента больных первостепенное значение приобретают молекулярные методы (различные варианты полимеразной цепной реакции), внедрение которых, по опыту ряда учреждений, позволило в 2-3 раза снизить вероятность инфицирования онкогематологических больных (46).

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиев А.Р. Влияние хирургической травмы на функциональное состояние печени у больных осложненными формами рака желудка и толстой кишки. Автореф. канд. дисс. Баку, 2002; 2. Алиев Д.А., Мамедов М.К., Гудратов Н.О. Онкологические аспекты вирусного гепатита В. Баку: Билик, 1993, 147 с. 3. Алиев Д.А., Мамедов М.К., Зейналов Р.С., Рагимов С.Э. Рак молочной железы и функциональное состояние печени. Баку: Билик, 1996; 4. Ахмедова И.Н. Особенности распространения вирусного гепатита В у онкологических больных. Автореф. канд. дисс. Баку, 1994; 5. Ахмедова С.Н. Функциональное состояние печени и иммунологический статус у женщин с доброкачественными и злокачественными опухолями гениталий. Автореф. канд. дисс. Баку, 2000; 6. Ахмедова И.Н., Мамедова Т.К., Мамедов М.К., Мамедов Н.А. - В кн.: Проблемы онкологии и мед. радиологии. Баку, 1992, т.2, с.138. 7. Балаян М.С., Михайлов М.И. Вирусные гепатиты. Энциклопедический словарь. М.: Амипресс, 1999; 8. Бондаренко И.А., Сомова А.В., Багрянцева С.Ю. и др. - В кн.: Гепатит В, С, D и G - проблемы изучения, диагностики, лечения и профилактики. М., 1997, с.28; 9. Васильев А.П., Квасовко В.В., Акимкин В.Г. и др. - Там же, с.37; 10. Гиясбейли С.Р. - Vita Med. J., 2000, N.1, с.15-21; 11. Гиясбейли С.Р. - Биомедицина, 2003, N.4, с.11-15; 12. Гиясбейли С.Р., Рагимов А.А., Хасиева Д.Т. и др. - Азерб.Ж.онкологии, 1999, N.1-2, с.28-30; 13. Гиясбейли С.Р., Зейналов Р.С., Мамедов М.К. и др. - Там же, 2000, N.1-2, с.34-36; 14. Голосова Т.В., Сомова Л.В., Багрянцева С.Ю. и др. - В кн.: Гепатит В, С и D - проблемы диагностики, лечения и профилактики. М., 2003, с.63-64; 15. Дадашева А.Э., Мамедова С.М. - Здоровье, 2003, N.7, с.60-63; 16. Дадашева А.Э., Оруджли Р.Н., Мамедов М.К., Михайлов М.И. - В кн.: Гепатиты В, С и D - проблемы диагностики, лечения и профилактики. М., 2001, с.102; 17. Дадашева А.Э., Алиев А.Ю., Кадырова А.А. и др. - Биомедицина, 2003, N.4, с.36-37; 18. Желудкова О.Г., Русанова М.Г., Ишкова Т.А., Шипулина О.Ю. - В кн.: Тезисы 2-го съезда онкологов стран СНГ. Киев, 2000, с.1221; 19. Желудкова О.Г., Русанова М.Г., Ишкова Т.А. и др. - Вирусные гепатиты, 1998, N.2, с.11-15; 20. Жильчук В.Е. - В кн.: Тезисы 2-го съезда онкологов стран СНГ. Киев, 2000, с.864; 21. Зейналов Р.С., Мамедов М.К., Фараджев О.Ф. - Вопр. онкологии, 1992, N. 4, с.447-451; 22. Зиновьева Л.И. Клинико-иммунологическая характеристика вирусного гепатита В у детей, больных злокачественными новообразованиями кроветворной и лимфоидной ткани, и вопросы иммунокорректирующей терапии: Автореф. канд. дисс. М., 1988; 23. Каира А.Н., Старостина Н.В., Россошанская Н.В., Махмутова Р.Р. - В кн.: Гепатит В, С и D - проблемы диагностики, лечения и профилактики. М., 2003, с.120-122; 24. Константинова Т.С., Шалаев В.А., Шпеер Е.Л. и др. - Тер. архив, 1996, N.7, с.17-21; 25. Кузнецова Н.Н., Черепанова В.В., Целюсова О.М. - В кн.: Акт. вопросы трансфузиологии и клинической медицины: Киров, 1995, с.23-25; 26. Лисицына Е.В. Манина Т.А., Брызгалов С.П. и др. - В кн.: Гепатит В, С, D и G - проблемы изучения, диагностики, лечения и профилактики. М., 1997, с.126; 27. Мамедов М.К. Злокачественные опухоли и инфекции, обусловленные ДНК-содержащими онкогенными вирусами. Автореф. докт. дисс., М.,1991; 28. Мамедов М.К. - Мир вирусных гепатитов, 2000, N.5, с.3-5; 29. Мамедов М.К. - Азерб.Ж.онкологии, 2001, N.2, с.99-108; 30. Мамедов М.К., Гудратов Н.О. Вирусы, вирусные инфекции и злокачественные

опухоли. Баку: Билик, 1992; 31. Мамедов М.К., Дадашева А.Э. - Азерб.Ж.онкологии, 2001, N.2, с.9-15; 32. Мамедов М.К., Михайлов М.К. - Вопр. вирусологии, 1992, N.1, с.71; 33. Мамедов М.К., Саилов М.Д. - В кн.: Акт. вопросы гематологии и трансфузиологии. Баку, 1994, с.79; 34. Мамедов М.К., Михайлов М.И., Оруджев Э.М. - В кн.: Гепатит В,С и D - проблемы диагностики, лечения и профилактики. М., 1999, с.142; 35. Мамедов М.К., Оруджли Р.Н., Гиясбейли С.Р. - Азерб.Ж.онкологии, 2000, N.1-2, с.10-17; 36. Мамедов Н.А., Ахмедова И.Н., Гудратов Н.О., Мамедов М.К. - Ж. микробиол., 1991, N.2, с.32-35; 37. Мамедов М.К., Ахмедова И.Н., Алиев Ю.Ю., Саилов М.Д. - Азерб.мед. Ж., 1994, N.7-12, с.34-37; 38. Мамедов М.К., Алиев Д.А., Гиясбейли С.Р. и др. - В кн.: Гепатит В,С и D - проблемы диагностики, лечения и профилактики. М., 1999, с.141; 39. Михайлов М.И., Мамедов М.К., Гиясбейли С.Р. - В кн.: Мат-лы 2-го конгресса онкологов закавказских государств, Баку, 2001, с.125; 40. Наумова А.К. Е.Н.Сотникова, В.В.Цибинюгин и др. - Молекулярная биология, 1988, N.22, с.106-110; 41. Николаева Л.И., Ярославцева Н.Г., Сысоева Е.П. и др. - В кн.: Гепатит В, С и D - проблемы диагностики, лечения и профилактики. М., 2003, с.213-214; 42. Оруджев Ш.Г., Мамедов М.К., Мамедова Т.К. - В кн.: Онкология и смежные науки на современном этапе. Баку, 1993, с.8; 43. Папернова Н.Ю. Клиника, диагностика и особенности течения НВ-вирусной инфекции у детей со злокачественными солидными опухолями. - Автореф. канд. дисс. М., 1985; 44. Рагимов А.А., Гиясбейли С.Р., А.Э.Дадашева, Мамедова С.М. - Здоровье, 2003, N.1, с.45-47; 45. Рагимов С.Э. Функциональное состояние печени у больных раком молочной железы. Автореф. канд. дисс. Баку, 1995; 46. Рейзис А.Р., Нурмухамедова Е.А. - В кн.: Клиническая онкогематология. Под ред.М.А.Волковой. М.: Медицина, 2001, с.539-552; 47. Самочатова Е.В., Михайлов М.И., Масчан А.А. и др. - Гематология и трансфузиол., 1996, N.3, с.9-13; 48. Солтанов А.А., С.Р.Гиясбейли, Дадашева Н.Р. и др. - Азерб.Ж.онкологии, 2001, N.1, с.44-45; 49. Сычкенич О.П., Коломиен Н.Д., Алейникова О.В. и др. - Здравоохранение, 1995, N.11, с.15-17; 50. Туполева Т.А., Сомова А.В., Голосова Т.В. и др. - В кн.: Гепатит В, С, D и G - проблемы изучения, диагностики, течения и профилактики. М., 1997, с.217; 51. Aliyev J., Mamedov M., Jafarov R. et al. - Azer.J.Oncology, 1996, v.2, p.52-53; 52. Arico V., Maggiore G., Silini E et al. - Blood, 1994, v.84, p.2919-2922; 53. Belice J., Ben-Gurion A. - In: Abstr. Int.Symp. Palliative care in oncology. Warsaw, 2002, p.23-24; 54. Cesaro S., Petris M., Rosetti F. et al. - Blood, 1997, v.90, p.1315-1320; 55. Dadasheva A., Giyasbeily S., Mamedov M., Semenenko T. - In: Abstr.Int.Symp.: Immunology and liver. Basel, 1999, p.115. 56. Dibenedetto S., Ragusa R., Sciacca A. et al. -EuroP.J. Pediat., 1994, v.153, p.271-275; 57. Dutta U., Raina V., Garg P. et al. - Ind. J. Med. Res., 1998, v.107, p.78-82; 58. Gunther S., Pivon N., Iwanska A. et al. - J. Viroil., 1996, v.70, p.8318-8331; 59. Komatsu H., Fujisawa T., Inui A. et al. - Blood, 1996, v.87, p.4072-4075; 60. Kondo H., Kasahara Y. - Cancer Lett., 1998, v.125, p.171-175; 61. Kristen M., Arnoldi K., Beckman D. et al. - In: Int. Symp. Palliative care in oncology. Warsaw, 2002, p.45-46; 62. Lopes-Jimenez J., Canselas J., Gatsia-Larana J. et al. - Transfusion, 1995, v.35, p.313-318; 63. Mamedov M., Mikhailov M., Semenenko T., Zeynalov R. - In: Int. Symp.: Molecular biology of breast cancer. Lillihamer, 1995, p.27; 64. Mamedov M.K., Dadasheva A.E., Orujli R.N. et al. - In: Cytokines in liver injury and repair. Int. Symp.: Progress in gastroenterology and hepatology. Hannover, 2001, p.59; 65. Mamedova S., Rahimov A., Mikhailov M. et al. - Azerb. J. oncology, 2003, N.2, p.117; 66. Mikhailov M., Akhmadova S., Mamedov M. et al. - Eastern Med. J., 1998, v.3, N.1&2, p.5-10; 67. Murotori L., Gibellini D., Lenzi M. et al. - Blood, 1996, v.88, p.2768-2774; 68. Nakamura Y., Motokura T., Fujita A. et al. - Cancer, 1996, v.78, p.2210-2215; 69. Orujev E., Aliyev J., Mamedov M., Mikhailov M. - In: New aspects in hepatology and gastroenterology. Tbilisi, 1998, p.221; 70. Perez-Alvarez J., Saez-Royela F. - Gastroenterol. Hepatol., 1998, v.21, p.90-91; 71. Repp R., von Horsten F., Csecke A. et al. - Arch. Virol. Suppl., 1993, v.8, p.108-111; 72. Rolsen A., Nickberg N., Oxman B. et al. - In: Int.Symp. Palliative care in oncology. Warsaw, 2002, p.72; 73. Sansonno D., Cornacchiolo V., Iacobelli A. et al. - Clin. Exp. Rheum., 1996, v.14, p.545-550; 74. Satoh T., Yamada T., Nakano S. et al. - Cancer, 1997, v.80, N.10, p.1981-1988; 75. Tagizade R., Ibrahimov Z., Kerimov A., Mamedova S. - In: Absrt. 8-th Eur. Congr. Int.Soc.Blood Transfusion. Istanbul, 2003, p.55.

SUMMARY

Transfusion viral hepatitis in oncological patients
A.Dadasheva

The review is devoted problem of viral hepatitis B and C among patients with malignant tumors and leukemias existed in specialized clinics. The

author demonstrates main specificities of hepatitis B and C spreading among these patients and discusses different aspects of its significance for oncologists and hematologists.

Поступила 05.11.2003

Интерфероны как стимуляторы иммунологически обусловленной резистентности

Ф. И. Ершов, А. А. Кадырова

НИИ эпидемиологии и микробиологии им.Н.Ф.Гамалея РАМН, г.Москва;
 Азербайджанский медицинский университет, г.Баку

Исследователи, почти полвека назад открывшие интерферон, вряд ли могли представить себе, что дальнейшее изучение обнаруженного ими вещества всего за четверть века во многом изменит лицо иммунологии и вирусологии и приведет к созданию целого семейства новых лекарственных препаратов, без которых сегодня трудно представить себе лечение ряда вирусных инфекций и злокачественных опухолей.

Интерфероны (ИФН) обладают несколькими фармакологически значимыми типами специфической биологической активности (в основном, противовирусной и антипролиферативной), но важнейшим из них считается комплекс иммуностропных свойств, присущих ИФН. Вероятно, поэтому в настоящее время абсолютное большинство лекарственных препаратов на основе природных и рекомбинантных ИФН во всех фармакологических руководствах и фармакотерапевтических формулярах рассматриваются в разделах, посвященных "модификаторам биологических реакций" (26). Между тем, судя по многим публикациям, отражающим теоретические и клинико-прикладные аспекты терапевтического применения этих препаратов в вирусологии и онкологии, первостепенная значимость их иммуностропного действия в реализации фармакологической активности остается на втором плане, будучи заслонена акцентами на более узких проявлениях действия ИФН.

В этом небольшом обзоре мы попытались продемонстрировать важность именно иммуностропного действия препаратов ИФН и, в том числе, их воздействия на иммунологически обусловленную резистентность, что лежит в основе их применения в лечении инфекционных и онкологических заболеваний. При этом, основ-

ное внимание мы уделили роли альфа-ИФН (α -ИФН), поскольку в основе большинства препаратов лежит именно α -ИФН.

Прежде всего, необходимо кратко пояснить причину использования в данном контексте недостаточно конкретного определения "иммуностропное действие" вместо уже ставшего традиционным сочетания "иммуномодулирующее действие". В этой связи отметим, что ИФН, являясь модуляторами иммунных реакций, выполняют важные регуляторные функции в общем комплексе единого контрольно-регуляторного механизма, направленного на поддержание структурного гомеостаза организма (19). Не имея принципиального отличия от других цитокинов, ИФН может оказывать на одни и те же структурно-функциональные элементы иммунной системы разнонаправленное действие, а конечный результат такого действия зависит не только от типа ИФН и его концентрации, но и морфо-физиологического состояния эффекторных иммуноцитов-мишеней (6, 9).

Несмотря на то, что детали воздействия ИФН на отдельные элементы иммунной системы даже сегодня не могут считаться полностью изученными, хорошо известно, что ИФН оказывают ощутимое влияние на различные элементы иммунной системы (27). Более того, ИФН способны воздействовать и изменять функциональное состояние иммуноцитов, участвующих в формировании не только антиген-зависимого иммунного ответа, т.е., на Т- и В-лимфоциты, но и антиген-независимых иммунологически обусловленных реакций, лежащих в основе резистентности (12, 28).

В естественных условиях влияние на иммунную систему осуществляется в организме всеми тремя типами ИФН, каждый из которых выполняет в организме различные регуляторные функции,

причем, во многих иммунных реакциях ИФН разных типов выступают как функциональные синергисты, стимулирующие иммуномодулирующую деятельность друг друга (5, 6).

Говоря о влиянии ИФН на функцию Т-лимфоцитов, отметим лишь то, что важнейшим свойством α -ИФН является регуляция функции клеток с фенотипом CD8+ (Т-супрессоры/киллеры). В процессе их активации α -ИФН выступает как синергист бета-ИФН (β -ИФН) и антагонист гамма-ИФН (γ -ИФН): последний является мощным ингибитором Т-супрессоров и стимулятором пролиферации клеток CD4+ - Т-хелперов/индукторов, способных распознавать макрофаги, несущие IgG (за счет усиления экспрессии Fc-рецепторов на моноцитах) (31).

Информация о влиянии ИФН на функцию В-лимфоцитов (предшественников антителообразующих плазматических клеток), все еще остается ограниченной, хотя известно, что оно может сводиться либо к стимуляции, либо к подавлению продукции антител (АТ). Результат воздействия ИФН зависит от дозы: большие дозы α -ИФН оказывают супрессорное воздействие на продукцию АТ (как результат ингибиции как Т-хелперов, так и пролиферации В-клеток), а малые дозы, наоборот, стимулируют синтез АТ. Кроме того, он зависит и от фазы образования АТ. В фазе индукции α -ИФН, подавляя дифференцировку В-клеток и их сенсibilизацию к антигенам, тормозит продукцию АТ, а после ее окончания не оказывает ингибирующего действия на их продукцию. Позднее, в фазе продукции, ИФН, стимулируя пролиферацию зрелых В-лимфоцитов и плазматических клеток, может существенно увеличить выход АТ (еще и за счет действия непосредственно на В-клетки и макрофаги и усиления экспрессии DR антигенов системы HLA и презентации антигена). В связи с этим отметим, что действие α -ИФН на поверхность клеток выражается и в усилении экспрессии антигенов главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) (1, 29).

Необходимо отметить и то, что α -ИФН модулирует гиперчувствительность замедленного типа, будучи частью регуляторного механизма ее формирования. При этом он оказывает противоположное действие в зависимости от времени применения α -ИФН: будучи введенным до воздействия антигена (АГ) - ингибирует, а введенный одновременно с АГ или сразу после него - усиливает ее, что, вероятно, связано с подавлением активности супрессорных иммуноцитов. α -ИФН также стимулирует гиперчувствительность немедленного типа и развитие анафилактических реакций. Аналогичное воздействие он оказывает и на реакцию организма на трансплантат и на процесс связывания комплемента (2, 22).

При введении в организм экзогенного ИФН конечный иммуномодулирующий эффект зависит

от дозы, способа и времени его введения, а также от типа ИФН. Если γ -ИФН находится в тесной связи с другими иммунорегуляторными молекулами, то α - и β -ИФН являются ключевым звеном сети различных ростовых факторов, регулирующих пролиферацию клеток и не обязательно связанных с иммунным ответом. Существование прямой зависимости эффекта от дозы вводимого ИФН указывает на необходимость применения их препаратов только после определения в периферической крови его уровня, тем более, что в настоящее время существует доступный иммуоферментный метод, позволяющий свести это исследование к постановке, по сути, простой серологической реакции (14, 15).

Особого внимания заслуживают особенности действия ИФН на иммуноциты, ответственные за реализацию иммунологически обусловленной резистентности (ИОР): макрофаги (МФ) и естественные киллерные клетки (ЕКК) (13).

МФ - это гетерогенная популяция моноцитоподобных клеток, участвующих практически во всех (как антигензависимых, так и антиген-независимых) иммунологических реакциях организма и играющих одну из ключевых ролей в защите организма от проникающих в него биопатогенов и возникающих в нем опухолей (25). При этом, защитные функции МФ находятся под постоянным контролем локально присутствующих α -ИФН и γ -ИФН, поскольку ИФН, наряду с некоторыми цитокинами, являются наиболее активными стимуляторами активности МФ. Действуя на Fc-рецепторы, ИФН разных типов стимулируют практически все функции МФ. Лишь иногда при длительной терапии высокими дозами α -ИФН отмечается снижение фагоцитарной активности МФ крови, однако, в этих случаях происходит повышение активности ЕКК (22).

Важнейшим свойством α -ИФН, предопределяющим его роль в обеспечении ИОР, является способность оказывать выраженное стимулирующее влияние на ЕКК, которые выполняют функцию важнейших рецепторно-эффекторных клеток, участвующих в формировании антиген-независимых иммунологически обусловленных реакций (13).

ЕКК, морфологически относящиеся к "большим гранулодержущим лимфоцитам" (составляющим, примерно, 20% всех лимфоцитов периферической крови), впервые описаны в 1976 г. и сейчас выделяются в самостоятельную субпопуляцию мононуклеарных клеток с фенотипом CD3-/CD16+ (18, 21).

Важнейшей особенностью ЕКК является их способность распознавать и уничтожать инфицированные вирусами клетки и клетки злокачественных опухолей. Распознавание этих клеток осуществляется независимо от наличия на их поверхности АГ ГКГС (хотя недавно установлено,

что часть ЕКК негативно контролируется АГ 1-го класса ГКГС). При этом инфицированные вирусными клетки распознаются по наличию на их мембранах модифицированных вирусными белками собственных супрамолекулярных мембранных структур, а опухолевые клетки - по свойственным им мембранным молекулам адгезии, отсутствующим у нормальных клеток (21). Эффекторные функции ЕКК в форме цитотоксического дистантного воздействия на любые вирусинфицированные и опухолевые клетки реализуются посредством продукции ими цитотоксических субстанций (25, 27).

Функциональная активность ЕКК подвержена определенным колебаниям, зависящим как от клоновых особенностей этих клеток, так и от физиологического состояния организма. Она контролируется рядом факторов, среди которых важное место принадлежит генетической детерминации их активности и системе цитокинов. ЕКК чувствительны к воздействию целого ряда цитокинов и, в первую очередь, интерлейкинов (ИЛ). В частности, их функция активизируется под воздействием ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-12, ИЛ-15 и других цитокинов (29). После стимуляции цитокинами ЕКК начинают продуцировать фактор некроза опухоли-альфа (ФНО- α), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, γ -ИФН, а также специализированные медиаторы, синтезируемые только ЕКК: лимфотоксин и растворимый естественный киллерный цитотоксический фактор. Это позволяет им осуществлять прямой и опосредованный (с вовлечением других клеточных и гуморальных факторов иммунитета) лизис вирусинфицированных и опухолевых клеток (28).

Вместе с тем, приоритетная роль в регуляции функции ЕКК, по всей вероятности, принадлежит α -ИФН (6). Принято различать эндогенные ЕКК, в норме присутствующие в небольшом количестве, и индуцированные, появляющиеся после стимуляции ИФН (32). Степень повышения активности ЕКК обычно пропорциональна дозе введенного α -ИФН. Быстрая стимуляция активности ЕКК (за несколько минут) указывает на прямое (без участия зрелых МФ и Т-клеток) действие ИФН на ЕКК. Для стимуляции ЕКК достаточно минутного контакта α -ИФН с ЕКК (время для прикрепления ИФ к цитомембране). При этом α -ИФН влияет на все стадии цитотоксического процесса, стимулирует как индукцию рецепторов для распознавания ЕКК-сенситивных мишеней и запуск ЕКК-обусловленного лизиса неактивными клетками, так и интенсивность и скорость литической активности уже активных ЕКК. ИФН облегчает рециклинг ЕКК для литического действия на несколько клеток-мишеней. Действие ИФН на эти показатели зависит от дозы ИФН, количественного соотношения "эффектор-мишень" и ин-

дивидуального, генетически детерминированного характера реагирования ЕКК (18).

Поскольку ЕКК способны к рециркуляции и активации, а также к экспрессии рецепторов для многих регуляторных молекул, их можно определить как важные иммунорегуляторные клетки, функционирование которых дополняет деятельность других эффекторных клеток, регулируемых ИФН (12).

Сочетание этих функций позволяет ЕКК формировать "первую линию обороны" против вирусных агентов и злокачественных опухолей. Вместе с тем, необходимо подчеркнуть, что и на более поздних стадиях развития вирусной инфекции и опухолевого роста, когда включаются антиген-зависимые механизмы защиты, протективная роль этих клеток сохраняет свое значение (2).

Как известно, при вирусных инфекциях, даже на "высоте" продукции АТ, внутриклеточные формы вирусов остаются недоступными для "атаки" гуморальными факторами - только ЕКК, вызывая деструкцию инфицированных клеток, обеспечивают выход во внеклеточное пространство вирионов и вирусных нуклеиновых кислот. При этом, первые распознаются АТ-ми и подвергаются воздействию сенсibilизированных Т-лимфоцитов и цитолитическому воздействию системы комплемента, а вторые, не будучи способны без необходимых для этого вирусспецифических белков пенетрировать цитомембраны здоровых клеток, элиминируются из организма.

При опухолевом росте значение ЕКК еще выше: их защитное действие, "включается" на самых ранних этапах прогрессии опухолевого роста (когда число опухолевых клеток исчисляется лишь сотнями) и сохраняется на протяжении всего периода существования и развития опухоли, не утрачиваясь даже на стадии метастазирования (2, 18).

Таким образом, ЕКК можно рассматривать как факторы, контролирующие инфекционные и неопластические процессы, т.к., с одной стороны, они ингибируют репродукцию вируса и тормозят пролиферацию атипических клеток, а с другой стороны, активируют защитные силы организма как на уровне антиген-зависимых иммунных реакций, так и на уровне нейро-эндокринной мобилизации адаптивно-метаболической резистентности организма (20, 31). Именно поэтому количество ЕКК в крови и их цитотоксическая активность является важным критерием для объективной оценки состояния не только ИОР, но и общего иммунного статуса организма (18).

Из изложенного выше следует, что оказывая стимулирующее воздействие на ЕКК, можно добиться повышения эффективности ИОР и, соответственно, повысить резистентность организма

не только к вирусным (и некоторым иным) инфекциям, но и канцерогенным воздействиям. На современном уровне развития биотехнологии такая возможность может быть реализована путем применения лекарственных препаратов на основе таких цитокинов, как ИЛ-2, ИЛ-6, G-SCF, GM-SCF, тимозин-альфа1 и др. (11, 16) Однако, поскольку эти препараты все еще имеют ограниченную доступность для клиники, более приемлемыми и наиболее изученными являются природные и рекомбинантные препараты α -ИФН, которые почти 20 лет с успехом используются в целом ряде отраслей медицины (7, 23).

Обсуждая возможность и перспективы использования ИФН для стимуляции ИОР в клинической практике, необходимо остановиться, в первую очередь, на применении лекарственных средств на основе ИФН в клинике инфекционных заболеваний вирусной этиологии и для лечения некоторых онкологических заболеваний.

Основной посылкой для применения α -ИФН при лечении вирусных инфекций является наличие у него упомянутой выше прямой противовирусной активности, ключевым моментом в реализации которой является подавление трансляции вирусспецифических и-РНК (процесс синтеза вирусспецифических белков на матрице вирусной и-РНК) - общего звена экспрессии геномов всех вирусов. Считается, что ИФН, активируя соответствующие гены, индуцируют синтез неактивных (зависимых от циклического АМФ) форм протеинкиназы и 2'5'-олигоденилат-синтетазы (ОАС). "Депротеинизация" вируса в клетке служит триггерным механизмом для активации этих ферментных систем. Активированная протеинкиназа фосфорилирует один из иницирующих факторов трансляции (фактор-2 инициации), который, после чего, утрачивает способность к образованию полноценного иницирующего комплекса. Это делает невозможным трансляцию вирусной и-РНК и синтез вирусспецифических белков. Активированная ОАС иницирует синтез 2'5'-олигодениловой кислоты, которая активирует латентные эндорибонуклеазы, разрушающие свободные (не связавшиеся с рибосомами) вирусные и-РНК. Кроме того, ИФН модулируют в клетке синтез особого Мх-белка, который подавляет синтез вирусной и-РНК на этапе транскрипции, что в итоге проявляется в виде противовирусного действия ИФН (6, 22).

Таким образом, не детализируя, можно заключить, что α -ИФН действует путем активации ферментов и ингибиторов, блокирующих трансляцию вирусных геномов, а также приводящих к дезинтеграции чужеродной (вирусной) генетической информации. Этот механизм является универсальным и действует при инфекциях, вызванных вирусами с разным типом организации генома (24).

Важнейшей областью современного применения препаратов α -ИФН как противовирусных средств является этиопатогенетическое лечение трансфузионных вирусных гепатитов. И, надо сказать, что в этой области уже достигнуты весьма впечатляющие успехи (22). Получены обнадеживающие данные об эффективности препаратов α -ИФН при лечении и ряда других вирусных инфекций (герпетические и др.) (3, 7, 10).

В то же время имеется немало публикаций о небезуспешном использовании препаратов α -ИФН для лечения хламидийной, микоплазменной и иных бактериальных инфекций (6). Учитывая, что большинство таких наблюдений касается применения препаратов α -ИФН в комбинации с антибактериальными препаратами, надо полагать, что терапевтическое действие α -ИФН при бактериальных инфекциях сводится именно к стимуляции ИОР, хотя нельзя исключить возможность наличия у α -ИФН прямых антихламидийных свойств, как проявление одного из его эффектов - антиинвазивной активности (3).

Таким образом, если при вирусных инфекциях важнейшим свойством ИФН, предопределяющим его терапевтическое действие, является противовирусная активность, а стимуляция ИОР является дополнительным свойством, то при бактериальных инфекциях, по всей вероятности, на первый план выходит именно способность ИФН стимулировать ИОР.

Применение ИФН в онкологии зиждется на двух, практически, равноценных по значению посылах. Первая связана с наличием у ИФН антипролиферативных свойств, а вторая - со способностью ИФН стимулировать противоопухолевое звено ИОР, обозначаемое как естественная противоопухолевая резистентность (ЕПР) (4).

Механизмы антипролиферативного действия ИФН ясны не до конца. Как упоминалось выше, влияя на активность генов клеток-мишеней, ИФН иницируют синтез протеинкиназы, ОАС, гуанилатциклазы и других ферментов, катализирующих реакции, продукты которых замедляют репликацию клеточной ДНК и останавливают трансляцию и-РНК. Это, в итоге, приводит к замедлению клеточного цикла и деления клетки. С другой стороны, ИФН модулируют дифференцировку клеток опухоли, восстанавливают контактное торможение роста клеток и усиливают реверсию трансформированных клеток, вероятно, за счет влияния на активность модификаторов онкогенов (17). Кроме того, ИФН усиливают экспрессию АГ ГКГС, что повышает эффективность распознавания клеток-мишеней эффекторными иммунными клетками. И, наконец, ИФН тормозят процесс ангиогенеза, что замедляет рост опухолей за счет угнетения ее васкуляризации. Эти свойства α -ИФН предопределили то, что препараты α -ИФН уже широко используются в клинической онко-

логии как противоопухолевые (цитостатические) препараты при лечении некоторых лейкозов, меланомы, рака почки, лимфом и др. (1, 2).

Способность α -ИФН стимулировать ЕПР по-видимому, является не менее важной, чем его прямое противоопухолевое действие. Результатом такой стимуляции является повышение активности макрофагальной системы, фагоцитоз полиморфонуклеарными клетками, Т-клеточная цитотоксичность и, главное, цитотоксичность ЕКК в отношении опухолевых клеток. В частности, α -ИФН способен в несколько раз повышать цитотоксическую активность ЕКК в концентрации, часто находящейся в сыворотке пациентов (21).

Отмеченная способность становится особенно значимой в силу наличия практически у всех онкологических больных более или менее выраженного иммунодефицита и угнетения ЕПР и, в том числе, значительного снижения способности лейкоцитов продуцировать ИФН. При этом, весьма типичным проявлением иммунодепрессии при злокачественных опухолях является снижение абсолютного и относительного количества ЕКК в периферической крови, их цитотоксической активности и понижение в ней концентрации эндогенных ИФН и, прежде всего, γ -ИФН. При этом дефицит продукции γ -ИФН ЕКК, как правило, не компенсируется функцией других иммунных клеток. Важно, что "агрессивность" многих онкологических заболеваний повышается по мере угнетения функциональной активности ЕКК, а развитие ремиссий сопровождаются достоверным повышением их количества и активности (33).

Возможность использовать α -ИФН для стимуляции ЕПР и, в частности, функциональной активности ЕКК видится весьма привлекательной уже только потому, что введение препаратов ИФН способно ощутимо повысить цитотоксическую активность ЕКК в отношении опухолевых клеток. Накопленный опыт позволяет рассматривать препараты ИФН как реально доступное и весьма эффективное средство, пригодное для стимуляции ЕПР в онкологической клинике (21).

Приняв во внимание, что успех противоопухолевой терапии в целом в немалой степени зависит от функционального состояния иммунологической реактивности и, в том числе, ЕПР, совершенно очевидно, что препараты ИФН могут стать ценным средством при проведении адъювантной иммунотерапии онкологических больных. Это означает, что широкое применение препаратов ИФН в онкологической клинике оправдано не только в качестве средства для "каузальной" терапии "высокочувствительных" к ИФН опухолей, но и, в первую очередь, в качестве иммуномодулирующих препаратов, повышающих эффективность базового цитостатического противоопухолевого лечения при, практически, всех онкологических заболеваниях (1).

Как показывает опыт, эффективность такой иммунотерапии несравненно выше, нежели в случаях применения иммуномодулирующих препаратов прежних поколений или неспецифических по характеру воздействия на организм адаптогенов. Проводя такое сравнение, не следует упускать из виду, что важным компонентом реализации положительного влияния упомянутых выше иммуномодуляторов (включая современные индукторы ИФН типа циклоферона) и, особенно, адаптогенов является лишь косвенная индукционная стимуляция образования эндогенного ИФН и, соответственно, поддержание функциональной активности эффекторных звеньев ЕПР (8).

Еще одним преимуществом применения ИФН в качестве иммуномодуляторов, точнее стимуляторов ЕПР, является возможность использования сравнительно низких доз препарата и на протяжении ограниченных промежутков времени в виде коротких повторяющихся курсов. Учитывая определенную инерционность активности ЕКК после завершения стимулирующего воздействия ИФН, можно рассчитывать на проявление некоего "последствия" ИФН (34). Это позволяет применять препараты ИФН в виде коротких (1-2 недельных) курсов между циклами химиотерапии или лучевого лечения. Целесообразность таких курсов в этих случаях очевидна, поскольку в процессе химиолучевого воздействия неизбежно происходит частичная альтерация и ЕКК (21).

Заслуживает краткого упоминания еще один аспект применения препаратов α -ИФН - долговременная профилактика развития первичного рака печени у больных хроническими вирусными гепатитами. Обоснованность применения α -ИФН в этих случаях уже документирована в ряде наблюдений за больными гепатитом С (35), хотя однозначно судить об истинном механизме такого антиканцерогенного (онкопротективного) действия α -ИФН трудно. С одной стороны, он может быть связан со стимуляцией ЕПР, но, с другой стороны, еще в 1966 г. было установлено, что ИФН способны ингибировать активность онкогенов и тормозить процесс возникновения злокачественных опухолей и, в первую очередь, ассоциированных с вирусами (2).

В заключение отметим, что еще одной областью применения ИФН в клинической медицине является патогенетическое лечение рассеянного склероза (30). Однако, несмотря на весьма высокую терапевтическую эффективность этих препаратов при данной патологии (при которой они пока остаются практически единственным реально действенным средством лечения этого заболевания), механизм их действия остается неизвестным и, скорее всего, не связан со стимуляцией ИОР.

Подводя итоги, следует отметить, что в данном обзоре мы коснулись лишь некоторых важ-

нейших теоретических положений, демонстрирующих современные представления об ИФН как о стимуляторах ИОР, а также возможности и перспективы их применения в клинической медицине в этом качестве. Мы не затронули вопроса о возможности использования с этой же целью группы препаратов на основе индукторов ИФН, поскольку их применение вместо ИФН имеет определенные недостатки и некоторые преимущества, которые нуждаются в специальном обсуждении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиев Д.А. - Vita Med.J., 2000, N.1, 6-11; 2. Алиев Д.А., Мамедов М.К. - Азерб.Ж.онкологии, 1996, N.1, с.3-10; 3. Бекгеримиров Т.А., Варданян Н.В., Николаева Е.И., Попов В.Ф. - В кн.: Человек и лекарство. Мат-лы конгресса.М.,1995, с.308; 4. Билынский Б.Т., Володько Н.А., Шпарык Я.В. Иммунологические механизмы естественной противоопухолевой резистентности. Киев: Наукова думка, 1991; 5. Волкова М.А. Интерфероны. - В кн.: Клиническая онкогематология. Под ред.М.А.Волковой. М.: Медицина, 2001, с.77-85; 6. Ершов Ф.И. Система интерферона в норме и патологии. М.:Медицина, 1996; 7. Ершов Ф.И. Антивирусные препараты. М.: Медицина, 1998; 8. Ершов Ф.И. - В кн.: Циклоферон - от эксперимента в клинику. С.-Пб.: НТФФ "Полисан", 2002, с.7-12; 9. Ершов Ф.И. - Вестн. Росс. Акад. Естеств. Наук, 2002, N.3, с.24-26; 10. Ершов Ф.И. Интерфероны. - Вестн.Росс. Акад. Естеств. Наук, 2003, N.3, с.49-53; 11. Кадагидзе З.Г. - Международный Ж. иммуно-реабилитации, 1997, N.6, с.47-57; 12. Кадырова А.А. - Биомедицина, 2003, N.3, с.12-16; 13. Кадырова А.А. - Биомедицина, 2003, N.4, с.3-10; 14. Кадырова А.А. - Здоровье, 2003, N.10, с.46-49; 15. Кадырова А.А., Ершов Ф.И., Мамедов М.К. - В кн.: Акт. проблемы гематологии и трансфузиологии. Баку, 2002, с.179-181; 16. Кребс Р. - Биомедицина, 2003, N.2, с.9-13; 17. Мамедов М.К. - Биомедицина, 2003, N.3, с.3-11; 18. Мамедов М.К., Дадашева А.Э. - Азерб.Ж. онкологии, 2001, N.2, с.9-15; 19. Мамедов М.К., Дада-

шева А.Э. - Здоровье, 2001, N.6, с.6-10; 20. Мамедов М.К., Кадырова А.А. - Азерб.Ж.онкологии, 2003, N.2, с.129-138; 21. Мамедов М.К., Трещалина Е.М. - Азерб.Ж.онкологии, 1999, N.1, с.8-14; 22. Мамедов М.К., Шапиро Б.Я. Лечение трансфузионных вирусных гепатитов рекомбинантным альфа-интерфероном. Ташкент: Юлдыз, 1999; 23. Попов В.П. Лекарственные формы интерферонов. М.:Трада-Х, 2002; 24. Рафальский В.В. Клиническое применение препаратов интерферона. Смоленск, 1997; 25. Ройт А., Бростофф Д., Мнел Д. Иммунология. М.: Мир, 1999; 26. Фармакотерапия, клиническая фармакология. Под ред. Г.Фюльграффа и Д.Пальма. Минск: Беларусь, 1996; 27. Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. М.: Медицина, 2000; 28. Ярллин А.А. Основы иммунологии. М.: Медицина, 1999; 29. Abbas A., Lichtman A. Pober J. Cellular and molecular immunology. N.Y.: Harcourt Brese & Co., 2002; 30. Arnason B. Teskas A., Dayal A. et al. - Neurol. Trans., 1997, v.307, p.403-414; 31. Baron S., Tyring S., Fleishmann W. - JAMA, 1991, v.266, p.1375-1383; 32. Peakman M., Vergant D. Basic and clinical immunology. N.Y.: Acad.Press, 1997; 33. Restifo N., Wunderlich J. - In: Cancer: Principles and practice of oncology. Eds. V.De Vita et al. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001, p.43-76; 34. Tsirkun A., Lobova N. - Azerb.J.Oncol., 1998, v.4, p.68; 35. Yoshida H., Shiratori Y., Moriyama M. et al. - Ann.Int.Med., 1999, v.131, p.174-181.

SUMMARY

Interferons as stimulators of the immune-mediated resistance
F.Yershov, A.Kadyrova

The paper reviews some approaches to interferon (IFN) application as the stimulators of immune-mediated resistance in clinical practice in the treatment of viral infections and malignant tumours. The authors analyses main biological properties of IFN mainly alpha-IFN which permit to use its drugs.

Поступила 11.11.2003

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Ферменты регуляции активности плазминогена в опухолях костей

А. И. Юсифов

Онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина
АМН Российской Федерации, г. Москва

Исследования последних лет в области изучения системы активации плазминогена при различных новообразованиях показывают, что плазминоген и ферменты, регулирующие его активность, играют значительную роль в развитии опухолевого процесса, а точнее - инвазии и метастазирования. В нормальных и опухолевых тканях были найдены два типа активаторов плазминогена (РА): активатор плазминогена урокиназного (u-РА), и тканевого (t-РА) типов. По представленным в литературе данным u-РА проявляет свою активность в процессах деградации межклеточного матрикса как в нормальном организме, так и в опухоли, в то время как t-РА участвует в тромбо- и фибринолизе (15, 21). Активаторы плазминогена превращают внеклеточный плазминоген в активную протеазу - плазмин, которая прямо или косвенно способствует деградации многих компонентов межклеточного матрикса. Предполагается, что u-РА играет центральную роль в регуляции межклеточного протеолиза в нормальных физиологических и патологических процессах.

Некоторые типы клеток обладают специфическими высокоаффинными участками для связывания u-РА, расположенными на цитоплазматической мембране. Связанный фермент приобретает способность активировать плазминоген. Присоединение u-РА к рецептору ведет к опосредованному через плазмин перичеллюлярному протеолизу. Таким образом, наличие u-РА рецептора дает возможность клеткам расщеплять плазминоген на своей поверхности (9).

Высокие уровни активности u-РА в первичной опухоли связаны с уменьшением безрецидивного периода для больных раком молочной железы (4). Исследование количества антигена u-РА в опухолевой ткани показывает, что у больных раком молочной железы без метастазов в лимфатических узлах и больных с метастазами u-РА является независимым фактором прогноза низкой безрецидивной выживаемости. В частности, работа J.A.Foekens и соавт. (1992) была проведена для подтверждения прогностического эффекта u-РА, а также для уточнения значи-

мости этого явления на большом клиническом числе наблюдений (6). Кривые Каплан-Мейера для пятилетней безрецидивной и общей выживаемости продемонстрировали повышенную степень риска для u-РА-положительных пациентов при раке молочной железы. В дальнейшем многочисленные работы с опухолями различных локализаций подтвердили более агрессивный характер новообразований с высоким содержанием u-РА (10, 3, 1).

На сегодняшний день известны два специфических РА-ингибитора. Один из них - PAI типа 1 образуется эндотелиальными и некоторыми неопластическими клетками (22), он также был обнаружен в тромбоцитах и плазме крови (5, 14). Другой тип - PAI-2, первоначально полученный из экстрактов плаценты, образуется еще и в культуре моноцитов-макрофагов (3). При исследованиях злокачественных опухолей молочной железы было обнаружено, что содержание PAI-1 коррелирует с процентом рецидивов и показателем смертности (19, 20).

Известные нам исследования, касающиеся изучения ферментов системы активации плазминогена, практически не коснулись редкой, сложной в клиническом и диагностическом аспекте, группы больных с различными новообразованиями костей.

В этой статье мы обратились к клиническому значению ферментов системы активации плазминогена в цитозолях различных опухолей костей, попытались оценить связь экспрессии изучаемых факторов с клинико-морфологическими особенностями заболевания, а также процессами метастазирования и размерами новообразований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В исследование включены образцы опухолей 65 больных, находившихся на лечении в РОНЦ РАМН в период 1995-2000 гг. Средний возраст больных составлял $25,7 \pm 11,5$ лет, среди них мужчин 35 (54%). Образцы тканей до проведения анализа хранились в морозильной камере при температуре 70°C . Из них готовили цитозоли, предназначен-

ные для проведения иммуноферментного определения. Больных разделили на пять групп согласно морфологическому варианту новообразований: остеосаркома - 20 (30,8%) случаев, хондросаркома - 20 (30,8%), гигантоклеточная опухоль (ГКО) - 13 (20%), костно-хрящевые экзостозы - 7 (10,8%) и опухоль Юинга - 5 (7,7%). Хирургические операции проводились 56 больным. Среди них в 29 (51,8%) случаях была проведена резекция соответствующей кости с удалением опухоли, в 10 (17,9%) - ампутации, 9 (16,1%) - резекции с эндопротезированием, 7 (12,5%) - краевые резекции и 1 (1,7%) экскохлеация. Новообразования чаще всего располагались в бедренной кости - 20 (30,8%), в костях таза - 10 (15,4%) в большеберцовой - 9 (13,8%), плечевой - 6 (9,2%) и малоберцовой костях - 6 (9,2%). Поражения других костей скелета: крестец - 3 (4,6%), лопатка - 2 (3,1%), лучевой и локтевой костей - 2 и единичные случаи опухолей в челюсти, грудине, ребре, ключице и в пяточной кости. 27 (41,5%) больных получали химиотерапевтическое лечение. Среди них предоперационное и послеоперационное лечение проводилось 11 (40,7%) пациентам, предоперационное - 5 (18,5%), послеоперационное - 5; 6 (22,2%) больных получали только химиотерапевтическое лечение. Метастазы наблюдались у 14 больных - 21,5% из общего числа. Опухоли метастазировали в 50% случаях остеосаркомы и 60% опухоли Юинга. У 16,9% из общего количества обнаружены местные рецидивы. Наибольшую частоту рецидивов наблюдали в группе остеосарком - 30% и хондросарком - 25%.

Иммуноферментный анализ. Определение проводилось с использованием наборов реактивов, разработанных в лаборатории проф. Т. Vengraad'a (Ниймеген, Нидерланды; Grebenschikov et al., 1997). В состав наборов входили следующие компоненты: 1) планшеты для микротитрования (96 лунок), покрытые двумя слоями антител: непосредственно поверхность планшет была обработана овечьими антителами против IgY цыпленка, а на этих антителах были адсорбированы IgY, выделенные из яичного желтка кур, иммунизированных соответствующим анализируемым компонентом (uPA, PAI-1 или tPA); 2) "фиксирующие" антитела - кроличьи антитела против соответствующего анализируемого компонента; 3) детекторные антитела - козы антитела против иммуноглобулинов кролика, конъюгированные с пероксидазой хрена (Sigma #A-0545), одинаковые для всех наборов; 4) таблетки субстрата пероксидазной цветной реакции - ортофенилендиамина (ОФД) и субстратный буфер (фосфатно-цитратный 76мМ/35мМ, pH 5,0); 5) препараты стандартов: uPA - рекомбинантный одноцепочечный белок (Grunenthal GmbH, Stolberg, Германия); PAI-1 - белок, выделенный из клеток ли-

нии HT1080 в лаборатории проф. P.Andreasen (University of Aarhus, Дания); tPA - рекомбинантный белок (Actilyse®, Boehringer Ingelheim, Alkmaar, Нидерланды).

Дополнительно в работе использовались следующие буферные растворы: промывочный буфер (ПБ); буфер для разведения (БР): ПБ с 1% БСА; субстратный буфер: 0,05 М фосфатно-цитратный буфер, pH 5,0, содержащий 0,03% пербората натрия. Растворы стандартов для построения калибровочной кривой готовили одинаково для всех последующих определений белков, разбавляя известные концентрации раствора стандарта с БР.

Порядок проведения анализа (одинаковый для всех наборов): 1) в лунки разливали в дублях по 0,1 мл растворов стандартов (лунки А1-2 - G1-2) и разведенных цитозолей; 2) инкубировали в течение ночи при 4°C, промывали 4 раза ПБ; 3) добавляли в лунки по 0,1 мл рабочих растворов соответствующих "фиксирующих" антител; 4) инкубировали при комнатной температуре в течение 2 часов, затем промывали; 5) добавляли в каждую лунку по 0,1 мл рабочего раствора детекторных антител; 6) инкубировали при комнатной температуре в течение 2 часов, промывали; 7) добавляли в лунки по 0,1 мл раствора субстрата (2 таблетки ОФД в 11 мл субстратного буфера); 8) инкубировали в течение 30 мин в темноте при комнатной температуре; 9) останавливали реакцию 10% H₂SO₄; 10) измеряли оптическую плотность растворов в лунках при 492/620 нм. Измерения проводили на автоматическом универсальном ридере для микроплашек ELx800 фирмы Bio-Tek Instruments, Inc. (США). В соответствии с инструкциями производителя, обработку результатов измерений проводили по формуле $Y = a + bX + cX^2$, где X - концентрация анализируемого белка (нг/мл), а Y - оптическая плотность при 492 нм. В окончательных расчетах учитывали десятикратное разведение цитозолей и выражали концентрации анализируемых белков в нг/мг цитозольного белка.

Для выявления различий в группах использовались F-критерий дисперсионного анализа, t-критерий Стьюдента и критерий Крускал-Уоллиса с поправкой на множественные сравнения. Для определения корреляций - критерий r-Пирсона и ранговый критерий корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Концентрации t-PA, u-PA и PAI-1, измеренные в цитозолях 65 опухолей, варьировали соответственно от 0 до 28,6 нг/мг белка для t-PA (медиана 0,36, средне±стандартное отклонение - 2,6±6,2), от 0 до 2,68 для u-PA (медиана 0,3 и 0,47±0,5 соответственно) и от 0 до 39 для PAI-1 (медиана 2,78 и 5,33±7,1 соответственно). Цитоплазматическая коэкспрессия нескольких протеаз, вовлеченных в процесс активации плазминогена, является час-

Таблица.

Группы	Кол-во	Среднее	Стан. Откл.	Медиана	Минимум	Максимум
t-PA						
Экзостозы	7	11,87	13,35	4,9	0	28,58
Хондросаркома	20	2,43	5,34	0,46	0	22,83
Остеосаркома	20	1,30	3,32	0,28	0	15,75
ГКО	13	0,79	1,36	0,33	0,004	4,48
Опухоль Юинга	5	1,167	0,84	0,9	0,45	2,43
u-PA						
Экзостозы	7	0,02	0,04	0	0	0,09
Хондросаркома	20	0,42	0,51	0,19	0	1,72
Остеосаркома	20	0,55	0,62	0,41	0	2,68
ГКО	13	0,68	0,42	0,71	0	1,50
Опухоль Юинга	5	0,37	0,68	0,08	0,039	1,59
PAI-1						
Экзостозы	7	4,60	6,63	2,66	0	18,82
Хондросаркома	20	9,58	10,05	4,6	0,30	39,04
Остеосаркома	20	2,49	1,98	2,08	0,03	7,44
ГКО	13	4,45	3,83	3,5	0,15	10,73
Опухоль Юинга	5	5,05	8,94	1,27	0,35	21

тым явлением и обнаруживается в различных группах опухолей (8).

При проведении сравнительного анализа между группами оказалось, что больше всего различий наблюдается для u-PA. Достоверно отличались показатели ГКО от хондросаркомы ($p < 0,01$), далее в порядке убывания - экзостозы от ГКО ($p = 0,033$), опухоль Юинга от экзостозов ($p = 0,043$), и остеосаркома от экзостозов ($p = 0,046$). Не было обнаружено значимых различий между группами экзостозов и хондросаркомы ($p = 0,22$), хондросаркомы и остеосаркомы ($p = 0,55$), хондросаркомы и опухоли Юинга ($p = 0,89$), опухоли Юинга и ГКО ($p = 0,34$). Содержание PAI-1 также варьировало в разных группах опухолей. При этом картина межгрупповых различий была уже другой: хондросаркома и остеосаркома - ($p = 0,001$), ГКО и хондросаркома ($p = 0,039$). Для тканевого активатора достоверно отличались уровни экзостозов от ГКО ($p = 0,028$). Учитывая вышеуказанные факты и низкую чувствительность непараметрических критериев при малом количестве случаев, дальнейший анализ решено было провести раздельно по группам.

Содержание протеаз в остеосаркомах.

Среди общего количества больных остеосаркомой десять подверглись химиотерапии непосредственно перед взятием материала, поэтому необходимо перед оценкой влияния предоперационной химиотерапии на показатели протеаз. Однако проведенный анализ не подтвердил существования достоверных различий в подгруппах в зависимости от проведения химиотерапии. Хотя показатели в группе "нелеченных" часто были выше, чем в "леченных" (медианы "нелеченных" и "леченных" соответственно: t-PA - 0,22, u-PA - 0,52,

PAI-1 - 3,22; t-PA - 0,25, u-PA - 0,59, PAI-1 - 1,62), эти различия оказались недостоверными, поэтому дальнейший сравнительный анализ провели в объединенной группе.

Концентрация t-PA, u-PA и PAI-1 в 20 цитозолях остеосарком составляла соответственно: медиана - 0,28, сред.±станд.отклон. - 0,79±1,39, интервал 0-6,23; u-PA: 0,41, 0,50±0,59, 0-3,15; PAI-1: 2,08, 2,49±1,98, 0,11-7,26. Эти данные сравнимы с результатами, полученными в аналогичных исследованиях (7). Для остеосарком не было обнаружено корреляционной зависимости между t-PA, u-PA и PAI-1, а также уровнем протеаз и возрастом больных ($p = 0,37$), гистологическим подтипом опухоли ($p = 0,28$).

У 10 из 20 больных были обнаружены метастазы в легких. Анализ показателей экспрессии протеаз в группах метастазирующих и неметастазирующих опухолей показал, что концентрации u-PA были в 2 раза выше в цитозолях тканей больных с метастазами (медиана - 0,24, сред.±станд.отклон. - 0,30±0,23 в безметастатических против 0,50, 0,76±0,73 в метастазирующих, $p < 0,05$). В то же время уровни других протеаз не различались в зависимости от наличия метастазов (медиана t-PA - 0,29 против 0,18 и PAI-1 - 3,1 против 1,73, $p > 0,05$).

Другим интересным наблюдением оказалась корреляционная взаимосвязь между уровнем PAI-1 и размером опухоли (рис. 1). Как видно из рисунка, коэффициент корреляции достаточно высокий, с достоверностью $p = 0,014$. При этом другие протеазы не коррелировали с размером опухоли: t-PA - $p = 0,82$; u-PA - $p = 0,52$.

Семь больных в группе остеосарком имели местные рецидивы. Однако разницу в содержа-

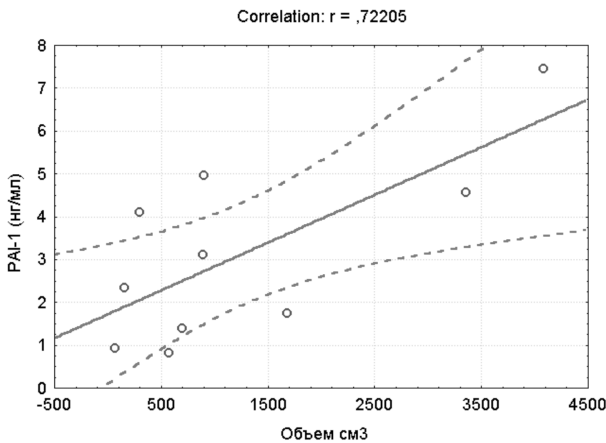


Рис 1. Корреляция между концентрацией PAI-1 и объемом опухолей

нии протеаз между рецидивными и безрецидивными больными обнаружить не удалось (t-PA - $p=0,27$, u-PA - $p=0,49$, PAI-1 - $p=0,73$).

Содержание протеаз в хондросаркомах. У 5 из 20 больных хондросаркомой наблюдались местные рецидивы. На этом основании больные были подразделены на 2 подгруппы. Однако статистически значимых различий между подгруппами не обнаружено. Концентрации протеаз: для t-PA-рецидивных - медиана 0,93, сред.±станд. отклон. $3,07 \pm 4,57$, t-PA-безрецидивных - 0,29, $2,29 \pm 5,65$ $p > 0,1$; для u-PA-рецидивных - 0,19, $0,51 \pm 0,72$, u-PA-безрецидивных - 0,31, $0,42 \pm 0,46$, $p=0,46$; для PAI-1-рецидивных - 4,29, $6,43 \pm 5,56$, PAI-1-безрецидивных - 6,63, $10,23 \pm 10,14$, $p=0,69$.

Как и в случае остеосарком, была обнаружена корреляция между концентрацией протеаз и размером опухоли. Но при хондросаркомах достоверная взаимосвязь была обнаружена и для тканевого активатора плазминогена ($r=0,67$), и для t-PA ($r=0,64$), для PAI-1 $p < 0,05$. Не обнаружено какой-либо зависимости между содержанием изучаемых протеаз и другими клинико-морфологическими характеристиками опухолей.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что основные протеазы, участвующие в процессе активации плазминогена, связаны со степенью злокачественности опухолевого процесса в костных новообразованиях. Повышенная экспрессия u-PA в метастазирующих опухолях остеосаркомы и связь PAI-1 с размером опухоли - основные выводы этого исследования.

Сравнительно небольшое количество исследований, посвященных изучению системы активации плазминогена в цитозолях опухолей костей, вероятно, связано с целым рядом факторов. Во-первых, опухоли костей достаточно редкая патология, во-вторых, определенную трудность составляет получение цитозолей некоторых гистологических вариантов опухолей, а также нормальной костной ткани. Тем не менее, результаты этих единичных исследований вполне сопоставимы с данными наших работ.

Протеазы системы плазминогена играют важную роль в процессе преобразования межклеточного пространства и взаимодействия клеток с окружающей средой, а в случае опухолевых тканей - в усилении пролиферации клеток, инвазивного роста и метастазов (18, 16). На конечном этапе активации плазмин может катализировать разрушение ламинина, колагена и фибронектина - основных компонентов внеклеточного матрикса и базальных мембран, кроме того плазмин расщепляет неактивные предшественники фактора роста эндотелия сосудов, в результате чего происходит активация VEGF (13, 11). Необходимо отметить, что повышение уровня экспрессии активаторов плазминогена (u-PA) часто связано с повышением уровня экспрессии их ингибитора (PAI-1). Коэкспрессия активаторов с ингибиторами может быть объяснена как свойство общей регуляции системы. Присутствие нескольких ферментов с противоположной активностью, возможно, необходимо для предотвращения полного разрушения межклеточного вещества. PAI-1 связывается с витронектином в межклеточной среде и может предотвращать деструкцию стромы, таким образом сохраняя сосудистую трофику опухолевой ткани (17).

В заключение необходимо сказать, что результаты исследования системы регуляции плазминогена при разных морфологических вариантах опухолей костей подтверждают связь экспрессии активаторов плазминогена t-PA и u-PA и их ингибитора PAI-1 со степенью злокачественности опухоли, предполагая активное участие названных протеаз в биологии неоплазматических тканей. Дальнейшие исследования, на наш взгляд, должны быть направлены на выявление потенциальных терапевтических или прогностических применений этих протеаз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Герштейн Е.С., Костылева О.И., Лятегин В.П. и др. Исследование компонентов системы активации плазминогена в злокачественных молочной железы. - Новое в онкологии. Вып. 4. Воронеж, 1999; 2. Castellote J., Grau E., Linde M. et al. Detection of both type 1 and type 2 plasminogen activator inhibitors in human monocytes. - Thromb Haemost, 1990, v.63, p.67-71; 3. Duffy M., Duggan C., Mulcahy H. et al. Urokinase Plasminogen activator: a prognostic marker in breast cancer including patients with axillary node-negative disease. - Clin. Chem., 44: 1177-1183, 1998; 4. Duffy M., O'Grady P., Devaney D. et al. Urokinase plasminogen activator, a marker for aggressive breast carcinomas: preliminary report. - Cancer, 1988, v.62, p.531-533; 5. Erickson L., Hekman C., Lokutoff D. The primary plasminogen activator inhibitors in endothelial cells, platelets, serum and plasma are immunologically related. - Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1985, v.82, p.8710-8714; 6. Foekens J., Shmitt M., Wim L. et al. Prognostic value of urokinase-type plasminogen activator in 671 primary breast cancer patients. - Cancer Res., 1992, v.52, p.6101-6105; 7. Foekens J., Shmitt M., Wim L. et al. Plasminogen activator inhibitor-1 and breast cancer metastasis. - J.Clin.Oncol., 1994, v.12, p.1648-1658; 8. Hackel C., Czerniak B., Ayala A. et al. Expression of plasminogen activators and plasminogen activator inhibitor in dedifferentiated chondrosarcoma. - Cancer, 1997, v.79, p.17-19; 9. Hoyer-Hansen G., Ploug M., Behrendt N. et al. Cell-surface acceleration of Urokinase-catalyzed receptor cleavage. - Eur.J.Biochem., 1997, v.243,

p.21-26; 10. Janicke F., Shmitt M., Hafter R. et al. Urokinase-type plasminogen activator (u-PA) antigen is a predictor of early relaps in breast cancer. - Fibrinolysis, 1990, v.5, p.69-78; 11. Kim W., Kovalski K., Ossowski L. Requirement for Specific Proteases in Cancer Cell Intravasation as Revealed by a Novel Semiquantitative PCR-Based Assay. - Cell, 1998, v.94, p.353-362; 12. Lijnen H., De Cock F., Collen D. Characterization of the binding of Urokinase-type Plasminogen activator (u-PA) to Plasminogen to Plasminogen-activator inhibitor-1 and to the u-PA receptor. - Eur. J. Biochem., 1994, v.224, p.567-574; 13. Liotta L.A. Tumor invasion and metastases - role of extracellular matrix. - Cancer Res., 1986, v.46, p.1-16; 14. Pedersen A., Brunner N., Hoyer-Hansen G. et al. Determination of the Complex between Urokinase and Its Type-1 Inhibitor in Plasma from Healthy Donors and Breast Cancer Patients. - Clin. Chem., 1999, v.45, p.1206-1213; 15. Pollanen J., Sakseba O., Salonen E. et al. Distinct localization of urokinase-type plasminogen activator and its type 1 inhibitor under cultured human fibroblasts and sarcoma cells. - J. Cell. Biol., 1987, v.104, p.1085-1097; 16. Reilly D., Christensen L., Duch M. et al. Type 1 plasminogen activator inhibitors in human breast carcinomas. - Int. J. Cancer, 1992, v.50, p.208-214; 17. Salonen E., Vaheri A., Pollanen J. et al. Interaction of plasminogen activator inhibitor (PAI-1) with vitronectin. - J. Biol. Chem., 1989, v.264, p.6339-6343; 18. Sumiyoshi K., Baba S., Sakaguchi S. et al. Increase in levels of plasminogen activator and type-1 plasminogen activator inhibitor in human breast cancer: possible roles in tumor progression and metastasis. - Thromb. Res., 1991, v.63, p.59-71; 19. Sweep C., Geurts-Moespot J., Grebenshikov N. et al. External quality assessment of trans-European multicentre antigen determinations (ELISA) of urokinase-type plasminogen activator and its type 1 inhibitor in human breast cancer tissue extracts. - Brit. J. Cancer, 1998, v.78, p.1434-1441; 20. Takeuchi Y., Nakao A., Harada A. et al. Expression

of plasminogen activators and their inhibitors in human pancreatic carcinoma: immunohistochemical study. - Amer. J. Gastroenterol., 1993, v.88, p.1928-1933; 21. van Roozendaal C., Klijn J., Sieuwerts A. Role of urokinase plasminogen activator in human breast cancer: Active involvement of stromal fibroblasts. - Fibrinolysis, 1996, v.2, p.79-83; 22. Yasuda T., Sakata Y., Kitamura K. et al. Localization of plasminogen activators and their inhibitor in squamous cell carcinomas of the head and neck. - Head. Neck., 1997, v.19, p.611-616.

SUMMARY

Regulation enzymes of plasminogen activity in bone tumors

A. Yusifov

The investigation is dedicated to study (with the help of ELISA) of plasminogen activators (u-PA and t-PA) and type 1 inhibitor (PAI-1) expression in tissue of different genesis bone neoplasms.

The results of study demonstrated level of all investigated glycoproteins were differed in dependence of tumor type and its malignancy grade. It was detected the correlative linkage between level of proteases and size of tumors at osteosarcoma and chondrosarcoma. These results indicated proteases of plasminogen system are involved in those tumors development.

Поступила 03.12.2003

Некоторые патогенетические факторы развития неврологических нарушений у больных острыми вирусными гепатитами А, В и С

Т. Ш. Мамедова

Азербайджанский медицинский университет, г.Баку

В отличие от гепатогенной энцефалопатии (ГЭП), патогенез которой уже детально изучен (2, 6), механизмы вовлечения нервной системы в патологический процесс при острых вирусных гепатитах (ВГ), протекающих в легкой и средне-тяжелой формах остаются ясными не до конца.

До середины 70-х гг. XX в. доминирующим оставалось мнение о том, что патогенез неврологических нарушений, отмечаемых при ВГ не имеет принципиальных отличий от такового при других формах гепатопатий и связан только с нарушением обмена веществ (8). К середине 80-х гг., когда были получены веские доказательства обоснованности концепции Dudley-Блюгера о важной роли в патогенезе гепатита В (ГВ) иммунопатологических процессов, более популярным стало представление о том, что если в основе неврологических нарушений, отмечаемых при гепатите А (ГА) лежат только метаболи-

ческие сдвиги, связанные с дисфункцией печени (7), то развитие неврологических расстройств при ГВ трактовалось как результат действия двух факторов: метаболических нарушений и иммунопатологических процессов (1).

Нами было показано, что несмотря на сходство спектра клинико-электрофизиологических признаков неврологических дисфункций, отмечаемых у больных легкими и средне-тяжелыми формами ГА, ГВ и гепатита С (ГС), при каждом из них эти признаки отличались по частоте регистрации, по степени их выраженности и продолжительности (4). Это косвенно указывало на то, что при разных этиологических типах ВГ соотношение различных механизмов развития неврологических нарушений может быть не одинаковым.

С учетом этих обстоятельств мы попытались оценить роль метаболических и иммунологических факторов в развитии дисфункции нервной

системы у больных ВГ и исследовали зависимость наличия клинико-неврологических признаков у больных ГА, ГВ и ГС от некоторых биохимических и иммунологических показателей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Основу настоящего исследования составило сопоставление результатов клинико-неврологического обследования находившихся под нашим наблюдением больных ГА, ГВ и ГС с результатами биохимических и иммунологического исследований крови этих больных, осуществленных совместно с кандидатами биологических наук Н.О.Гудратовым и Т.К.Мамедовой (Онкологический научный центр), которым мы выражаем благодарность.

Биохимические исследования включали определение в сыворотке крови активности гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТ), уровня аминного азота (азота свободных аминокислот, находящихся в крови), концентрации в крови глутатиона (ГН) и желчных кислот (ЖК). Активность ЩФ и ГГТ определяли с использованием соответствующих коммерческих наборов фирмы Labsystem (Финляндия), а учет результатов осуществляли фотометрически на полуавтоматическом анализаторе ФП-900 той же фирмы. Определение аминного азота было осуществлено методом пересчета, исходя из количества перегнанного аммиака. Определение в крови ГН и ЖК было осуществлено модифицированными фотометрическими методами. Уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) определяли с помощью седиментационного метода по методике Digeon et al. (1977).

Математическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью традиционных параметрических методов.

Для определения биохимических и иммунологических параметров была взята кровь у больных легкими и средне-тяжелыми формами ГА, ГВ и ГС, у которых отмечалась выраженная неврологическая симптоматика и у больных, у которых выявить неврологические симптомы не удавалось (или они были выражены минимально). Далее, в пределах группы больных каждым из этиологических типов ВГ, были сравнены средние численные величины соответствующих показателей у больных, имевших и не имевших признаки дисфункции нервной системы.

Общее число биохимически и иммунологически обследованных пациентов составило: ГА - 35 (из них у 18 неврологическая симптоматика отсутствовала), ГВ - 37 (из них у 18 неврологическая симптоматика отсутствовала) и ГС - 18 (из них у 12 неврологическая симптоматика отсутствовала).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Анализ полученных результатов показал, что у больных ГА и ГС, независимо от тяжести заболевания, средний уровень аминного азота в крови оставался

в пределах колебаний этого показателя у здоровых лиц. У больных ГВ его средний уровень был выше, чем таковой у больных ГА и ГС, хотя различия между средними величинами данного показателя у больных ГВ и ГА сохраняли статистическую значимость в интервале лишь $p < 0,1$. При сравнении величин этого показателя у больных, имевших и не имевших неврологическую симптоматику оказалось, что несмотря на то, что у больных ГВ с выраженными неврологическими проявлениями уровень аминного азота был несколько выше, чем у больных с ГВ с минимальными признаками вовлечения ЦНС в патологический процесс, достоверной разницы между этими двумя группами больных обнаружить не удалось.

Известно, что дисфункции печени, лежащие в основе патогенеза клинически манифестных форм всех вирусных гепатитов, сопровождаются сдвигами в функционировании ГН и сопряженных с ним энзимов (10). Более того, известно, что ГН, содержание которого в клетках ЦНС значительно выше, чем в периферической крови, обеспечивает сохранение каталитической активности тиоловых ферментов и нормальную утилизацию нейронами глюкозы, поскольку он является активным началом фермента глиоксалазы. Снижение же уровня этого вещества в мозге приводит к снижению ассимиляции глюкозы и синтеза АТФ и, соответственно, влечет за собой развитие дистрофических процессов в нейронах и, соответственно их дисфункцию (9).

Поскольку, общее количество ГН в крови формируется из восстановленной (более 90%) и окисленной форм (менее 10%) этого дипептида, динамическое равновесие между этими формами и определяет его участие в процессах детоксикации, полученные нами результаты позволяли сделать следующее заключение.

У всех больных и, прежде всего, ГВ отмечалось заметное снижение уровня восстановленного ГН (в-ГН) на фоне умеренного снижения общего количества ГН. Это могло быть следствием того, что течение ГВ в большей мере сопровождалось появлением в крови свободнорадикальных соединений, на детоксикацию (восстановление) которых расходовалось большее количество в-ГН.

Сравнение средних уровней в-ГН у больных ГА и ГВ (с легким и средне-тяжелым течением заболеваний) с наличием и отсутствием клинико-неврологической симптоматики показало, что у больных с легкими формами ГА и ГВ с наличием и отсутствием неврологической симптоматики не выявилось статистически значимое различие в средних уровнях ГН, в то время как у больных со среднетяжелой формой этих заболеваний такая разница существовала: при ГА она сохраняла статистическую значимость в интервале $p = 0,05$, а при ГВ - в интервале $p < 0,05$.

Это косвенно указывало, на то, что в патогенезе неврологических нарушений при ВГ определенную роль, скорее всего, играло снижение функций системы антиоксидантной защиты организма, связанное с ГН. В связи с этим, мы полагаем, что к числу факторов, оказывающих при ГА и ГВ (и, вероятнее всего, при ГС) нейротоксическое действие должны быть отнесены и накапливающиеся, при этом, в крови недоокисленные продукты метаболизма.

Внутрипеченочный холестаза является одним из компонентов развития паренхиматозного гепатита, хотя его выраженность при различных ВГ его интенсивность не одинакова (1, 6). Это побудило нас попытаться оценить патогенетическую роль последствий холестаза в развитии неврологических расстройств у больных ГА и ГВ. С этой целью мы определили в сыворотке крови биохимические маркеры холестаза, а именно, концентрацию ЖК и активность ГГТ.

Полученные результаты показали, что у всех больных, имевших неврологическую симптоматику, активность ГГТ и уровень ЖК были, в среднем, выше, нежели у больных, не имевших такую симптоматику. Причем, разница между этими показателями не носила статистически устойчивый характер только у больных легкой формой ГА, а во всех остальных случаях она имела статистическую значимость при $p < 0,05$, а у больных ГВ со средней тяжестью течения, даже в интервале $p < 0,01$. Это с определенностью указывало на то, что повышение этих показателей, являющееся прямым следствием внутрипеченочного холестаза играло определенную роль в качестве, по крайней мере, одного из причинных факторов развития неврологических расстройств при ВГ.

Косвенное подтверждение обоснованности этого вывода было получено и в ходе проведенного нами наблюдения за группой больных ГВ, в ходе которого мы оценили эффективность противохолестатического препарата "урсофальк" (урсодезоксихолевая кислота). Судя по результатам этого наблюдения, частота регистрации имевшихся у больных субъективных и объективных клинико-неврологических признаков, после месячного приема урсофалька сократилась значительно сильнее, нежели у больных, не принимавших урсофальк (5).

Оценивая полученные результаты биохимических исследований, в целом, надо подчеркнуть, что ограниченный объем выборки обследованных больных не позволял сделать окончательные выводы по данному вопросу. В то же время, полученные нами результаты косвенно указывали на то, что в развитии неврологических нарушений у больных ВГ, помимо уже ранее изученных сдвигов метаболизма, определенную роль играли повышение аминного азота (3) и снижение

уровня ГН в крови и связанное с ним повышение в крови свободнорадикальных соединений (10). Кроме того, наиболее демонстративными, в этом контексте, нам представляют метаболические последствия внутрипеченочного холестаза и, в частности, повышение концентрации в крови ЖК, которые, по-видимому, также способны оказывать нейротоксическое действие (6, 9).

Вместе с тем, играя важную роль в патогенезе печеночной энцефалопатии и определенную роль в процессах вовлечения в процесс ЦНС и, в меньшей степени, периферической нервной системы, указанные метаболические нарушения едва ли имеют решающее значение, так как в основе поражения ЦНС, по крайней мере, при ГВ и, вероятно, при ГС лежит несравненно более сложный, многокомпонентный механизм.

Учитывая важную роль в патогенезе ГВ и ГС иммунопатологических процессов мы предположили, что свой "вклад" в развитие неврологических нарушений при этих этиологических формах ВГ могут вносить и нарушения в иммунологическом гомеостазе. Именно это соображение побудило нас сравнить уровни ЦИК, основного показателя иммунопатологической "настроенности" организма, у больных ГА, ГВ и ГС, имевших и не имевших признаки неврологических расстройств.

Судя по результатам этого исследования, у больных ГА средний уровень ЦИК в сыворотке был повышен менее, чем в 2 раза по сравнению со здоровыми лицами, у больных ГВ этот показатель оказался выше верхней границы нормы более, чем в 3,5 раза, а у больных ГС он превышал таковой у здоровых лиц в 2,3 раза. Этот факт указывал на то, что наиболее интенсивно аутоиммунные процессы протекали у больных ГВ и оставались на минимальном уровне у больных ГА.

Сравнения уровней ЦИК у больных ВГ, имевших и не имевших неврологическую симптоматику показало, что в группе больных ГА разница между этими показателями практически отсутствовала. В то же время, между этими показателями имелась отчетливая разница в группе больных ГВ ($p < 0,01$) и ГС ($p < 0,05$). Высокая степень статистической устойчивости различий в уровнях ЦИК у больных ГВ, имевших и не имевших признаков неврологических расстройств позволила придти к заключению о том, что повышение уровня ЦИК, несомненно, играет определенную роль в вовлечении в процесс нервной системы у больных ГВ и, вероятно, у больных ГС.

Таким образом, анализ результатов проведенных нами лабораторных исследований позволил полагать, что при поражении нервной системы при ГА является следствием лишь метаболических нарушений. С другой стороны, приняв во внимание существенные отличия в па-

тогенезе ГА и парентеральных гепатитов (ГВ и ГС), мы полагаем, что при ГВ и, в меньшей степени, при ГС, в вовлечение нервной системы в патологический процесс, в принципе, свой "вклад" может вносить еще один фактор - высокое содержание в крови ЦИК, которые способны алтерировать клетки внепеченочного типа. Возможно, что ЦИК оказывают такое действие если не на защищенные гематоэнцефалическим барьером нейроны и глиальные клетки, то на эндотелиоциты мозговых капилляров, вызывая, таким образом, нарушения микроциркуляции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Блюгер А.Ф., Новицкий И.Н. Вирусные гепатиты. Рига: Звайгзне, 1988; 2. Мамедова Т.Ш. О патогенезе неврологических нарушений при заболеваниях печени. - В кн.: Акт. вопр. гематологии и трансфузиологии. Баку, 2002, с.199-201; 3. Мамедова Т.Ш., Гудратов Н.О. О некоторых показателях азотистого обмена при вирусных гепатитах, сопровождающихся неврологическими проявлениями. - В кн.: Мат-лы научно-практ. конфер., посвященной 70-ти летию А.Т.Аббасова. Баку, 1998, с.22-23; 4. Мамедова Т.Ш., Магалов Ш.И. Клинические особенности неврологических нарушений у больных острыми вирусными гепатитами. Биомедицина, 2003, N.4, с.15-18; 5. Мамедова Т.Ш., Худавердиева Н.М. Урсодезоксихолевая кислота в лечении больных вирусным гепатитом В, имевших неврологическую симптоматику. - Здоровье, 2003,

N.10, с.25-26; 6. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей. М.: Гэотар-Медицина, 1999; 7. Dollberg S. Seizures in the course of hepatitis A. - Amer.J. Dis. Child., 1990, v.144, p.140-141; 8. Koff R. Viral hepatitis. N.Y.: J. Wiley Med. Publ., 1979; 9. Kuntz E., Kuntz H. Hepatology. Berlin: Springer, 2002, p.233-254; 10. Mamedova T., Gudratov N. Some indices of the xenobiotics detoxication system function at viral hepatitis patients with neurological manifestation. - Azerb.J.oncology, 1999, v.5, p.96.

SUMMARY

Several pathogenetic factors of neurological disorders development at patients with acute viral hepatitis A, B and C

T.Mamedova

The paper contains results obtained in laboratorial examination of blood of patients with acute viral hepatitis A, B and C who had some neurological disorders. The author demonstrates existing the substantial differences between some biochemical parameters and level of circulated immune complexes in the blood serums at patients with and without neurological disorders. These data indicate the difference between pathogenesis of hepatitis A, B and C.

Поступила 10.12.2003

Синтез меченых антител к гемагглютинуину вируса гриппа

Э. М. Агаев

Азербайджанский медицинский университет, г. Баку

При производстве противовирусных препаратов, в частности, противогриппозных вакцин в ходе производственного цикла требуется проводить количественный анализ содержащегося в культуральной жидкости гемагглютинина (ГА) вируса гриппа на разных стадиях технологического цикла, что осуществляется в соответствии с "Методическими указаниями по проведению контроля противогриппозных препаратов", утвержденными еще в 1984 г. по методу одиночной реакции иммунодиффузии в агаровом геле. Метод обладает рядом существенных недостатков, а именно: низкими чувствительностью, объективностью и точностью, а также длительностью анализа, поэтому по мере совершенствования технологического процесса в связи с возрастающими требованиями к качеству продукции, возникает необходимость замены устаревших методов, и в т. ч. аналитических более совершенными новыми методами.

К настоящему времени разработано и широко используется большое количество методов выявления вирусспецифических агентов. Эти методы преимущественно основаны на введении в компоненты иммунного комплекса антиген-антитело различных меток, которые могут быть радиоактивными изотопами, ферментами или флуоресцирующими веществами. Получивший наибольшее распространение на первых этапах метод радиоиммунологического анализа (РИА) к настоящему времени уже практически полностью вытеснен методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) (1, 2) который, обладая преимуществами РИА (высокая чувствительность и специфичность), не имеет его недостатков - низкой стабильности и неудобств, создаваемых работой с радиоизотопами. Широко используемый в настоящее время метод ИФА также уже исчерпал свои возможности. К недостаткам ИФА можно отнести относительно

длительное время для проведения анализа, низкую точность и воспроизводимость измерений, высокую цену некоторых ферментов и их низкую стабильность, а также возможность перекрестных реакций.

В последнее время предложен ряд новых аналитических методов, основанных на выявлении специфических вирусных нуклеиновых кислот. Так, метод, основанный на ферментативной амплификации нуклеиновых кислот, позволяет снизить предел обнаружения вплоть до одной молекулы нуклеиновой кислоты (3). Однако, метод имеет серьезный недостаток - необходимость использования специфических праймеров, которые могут быть сконструированы методами генной инженерии, если известна последовательность нуклеотидов в выявляемой нуклеиновой кислоте. Другой современный аналитический метод, позволяющий обнаруживать вирусные антигены в пикограммовых количествах, основан на точечной гибридизации вирусных нуклеиновых кислот (4). Существенным недостатком этого метода является необходимость использования высокоочищенных препаратов элементарных нуклеиновых кислот к радиоактивной метки, что снижает практическую ценность этого метода. Как ясно из вышеизложенного, перечисленные методы по ряду присущих им недостатков не могут быть использованы для анализа вирусных антигенов в производственных условиях. Наиболее удобным методом количественного определения ГА в производственных условиях является метод флюороиммунного анализа (ФИА), который широко используется в прикладной иммунохимии (5) и вирусологии. Для этого метода характерна высокая чувствительность, достигающая пикограммовых количеств вирусных агентов, хорошая специфичность и малая продолжительность анализа, а также объективность полученных результатов. Однако, ФИА так-

же не лишен некоторых недостатков, заключающихся в применении труднодоступных или дефицитных флюоресцентных меток и приборов для регистрации флюоресценции, что, однако, не является серьезным препятствием для использования этого метода в производственных условиях.

Метод количественного ФИА ГА в вируссо-держажших жидкостях, излагаемый в настоящей работе, разработан применительно к производственным условиям (6). Его главным отличительным моментом является использование в качестве флюоресцентной метки белка нового отечественного флюоресцентного реагента, селективно и ковалентно присоединяющегося к белку по сульфгидрильной группе и представляющего собой малеимидное производное 2-Н-1-бензопиран-2-она (МИМК), синтезированного в НПК ХТЛП СПбНИИВС (7). Он не обладает собственной флюоресценцией, однако, интенсивная флюоресценция возникает у иммунного комплекса антитело-МИМК после их конъюгирования.

Метод является вариантом твердофазного ФИА и основан на измерении флюоресценции иммунного комплекса, который включает в себя следующие основные стадии: адсорбцию антител на поверхности лунок полистиролового микропланшета, стадию специфического взаимодействия с участием меченого антитела, промежуточные стадии детекции флюоресценции и определения концентрации ГА по калибровочной кривой. В твердофазном ФИА детектируется фракция меченого соединения, связавшегося с иммуносорбентом, но для детекции вводится стадия десорбции меченого соединения с поверхности твердой фазы в объем. Это достигается за счет использования десорбирующего раствора.

Методика отбора проб. Количественное определение ГА в жидкостях, в частности, в сыворотках, вирусных концентратах и др. объектах

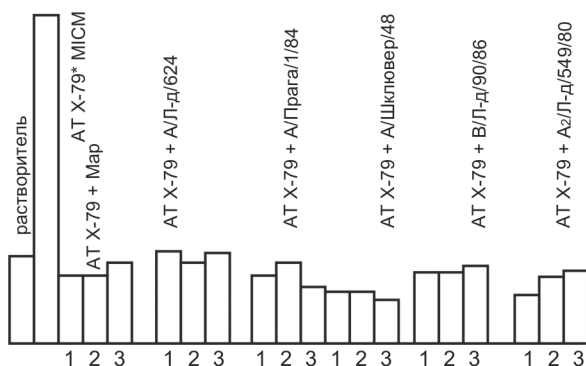


Рис. 1. Неспецифические реакции АТ к геммагглютинуину вируса гриппа штамма X-79 с гетерологичными вирусами, выявляемые с помощью иммунофлуоресцентного анализа.
1 - разведение ампулы 1/4; 2 - разведение ампулы 1/40; 3 - разведение ампулы 1/400

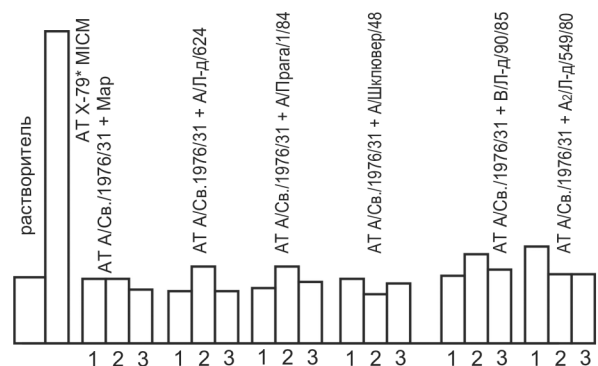


Рис. 2. Неспецифические реакции АТ к геммагглютинуину вируса гриппа штамма А/Свинья/31 с гетерологичными вирусами, выявляемые с помощью иммунофлуоресцентного анализа.
1 - разведение ампулы 1/4; 2 - разведение ампулы 1/40; 3 - разведение ампулы 1/400

апробировано с использованием метода твердофазного ФИА, при этом концентрация ГА в указанных жидкостях не должна превышать 100 мкг/мл, что объясняется сорбционной емкостью лунки микропланшета, поэтому требуется предварительное определение концентрации белка по Лоури в исследуемых объектах и приготовление соответствующих разведений с помощью забуференного физиологического раствора.

Получение иммуноглобулинов класса G, меченых флуоресцентной меткой. Мечение иммуноглобулинов класса G против ГА вируса гриппа определенного штамма, выделенных из сыворотки крови кролика (титр в РТГА 1/320) с использованием метки МИМК, проводится по следующей схеме.

Раствор иммуноглобулинов известной концентрации в физиологическом растворе pH 7,2 - 7,4 нейтрализуют добавлением 15% объема 0,1 М карбонатно-бикарбонатного буфера pH 9,5 (карбонатно-бикарбонатный 0,1 М буфер pH 9,5: растворяют 21,2 г Na_2CO_3 в 1 л дистиллированной воды - раствор А; растворяют 16,8 г NaHCO_3 в 1 л дистиллированной воды - раствор В. Смешивают 13 мл раствора А и 37 мл раствора В и доводят дистиллированной водой до объема 100 мл). Затем белковый раствор в колбе объемом 50 мл помещают на магнитную мешалку и при постоянном легком перемешивании добавляют 1%-ный раствор МИМК в диметилформамиде в количестве необходимом для получения концентрационного соотношения белок - метка, равного 1:10. Реакцию проводят в течение 18 час. при 4°C. После этого меченый белок очищают от избытка несвязавшейся метки, органических растворителей, избытка солей, перемеченных и поврежденных белковых частиц с помощью колоночной гельхроматографии на Sephadex G-25. Объем колонки 100 мл. Хроматографируемый раствор белка не должен превосходить по концентрации - 10 мг белка на 1 мл и по объему - 5 мл. Контроль за выходом фракции меченых антител осуществляют спектрофотометрически при длине волны 280 нм. Титр антител в РТГА после мечения не менее 1/128. Концентрацию очищенных меченых антител и молярное соотношение антитело - метка определяют спектрофотометрически при длинах волн поглощения белка и МИМК - на 280 и 330 нм, соответственно. Зависимость интенсивности флуоресценции меченых антител от их концентрации определяют на спектрофлуориметре "Hitachi-MPF 4A". Параметры измерений представлены ниже:

- длина волн возбуждения - 340 нм;
- длина волны эмиссии - 400 нм;
- ширина щели - 16 нм;
- чувствительность - 3 или 4.

Концентрацию ГА в вирусосодержащих жид-

костях определяют с использованием твердофазного иммунофлуоресцентного метода на полистироловых планшетах. Метод заключается в том, что на планшет сорбируют антитела против ГА вируса гриппа определенного штамма, затем их конъюгируют с любым вирусосодержащим гриппозным материалом, в котором нужно определить исследуемый антиген, а затем конъюгируют с меченым антителом против того же антигена. Метод осуществляется тремя этапами:

1. В лунки планшета разливают по 0,2 мл иммуноглобулинов в карбонатно-бикарбонатном буфере, с концентрацией белка 1 мг/мл. Планшет инкубируют 1 час при 37°C, затем 18 час при 4°C. После инкубации лунки промывают не менее двух раз забуференным физиологическим раствором. Свободные центры сорбции блокируют, добавляя в лунки по 0,2 мл 0,3%-ного раствора бычьего сывороточного альбумина (БСА) с последующей инкубацией в течение 1 часа при 37°C. Затем каждую лунку промывают не менее 2-х раз забуференным физиологическим раствором.

2. В каждую лунку добавляют по 0,2 мл исследуемого вирусосодержащего материала (вирусного концентрата, вакцины) и инкубируют 1 час при 37°C, после чего лунки промывают не менее 2-х раз забуференным физиологическим раствором.

3. В лунки добавляют по 0,2 мл раствора меченых антител в концентрации 100 мкг/мл и инкубируют 1 час при 37°C, затем лунки промывают не менее 4-х раз забуференным физиологическим раствором для удаления несвязавшихся меченых антител. После этого в каждую лунку добавляют по 0,2 мл десорбирующего раствора - 0,1 М раствора гидроксида натрия для десорбции иммунного комплекса антиген-антитело. После легкого встряхивания планшета раствор из лунки переносят в кювету для измерений и доводят объем до 3 мл карбонатно-бикарбонатным буфером.

Интенсивность флуоресценции измеряют на спектрофлуориметре "Hitachi-MPF 4A" при чувствительности 3 или 4. Согласно полученным результатам определяют концентрацию ГА в исследуемых материалах.

РЕЗУЛЬТАТЫ. По измеренной интенсивности флуоресценции полученного раствора определяют количество ГА в образце.

Основные показатели метода:

1. продолжительность эксперимента - рабочий день;
2. производительность по определению концентрации ГА - 96 проб/день;
3. минимально определяемая концентрация ГА в образце составляет менее 10 нг/мл.

В заключение следует отметить, что настоящий иммунофлуоресцентный метод количественного

определения гемагглютинаина вируса гриппа по сравнению с существующим методом имеет высокую чувствительность определения, сокращает время анализа и повышает объективность полученных результатов, поэтому он рекомендуется для контроля за количественным содержанием ГА в вирусосодержащих препаратах в производственных условиях на предприятии по производству вакцин на предприятии по производству вакцин медицинской промышленности России. Данный метод также пригоден для диагностики вируса гриппа, как самостоятельно, так и в сочетании с методом иммуноглобулина, так как меченые антитела проявляют достаточно высокую специфичность в отношении к антигену вируса гриппа - гемагглютинину (рис. 1 и 2).

ЛИТЕРАТУРА

1. Чард Т. Радиоиммунологические методы. - М.: Мир - 1981, 246 с.
2. Веселов С.Ю., Синяков Н.С., Харитonenков И.Г. и др. Разработка иммуноферментной тест-системы для количественной инди-

кации гемагглютинаина вируса гриппа в биологических образцах. - Вопросы вирусол., 1985, N.6, с.672-679; 3. Carman W.T. Kidd A.A. An assessment of optimal conditions for amplification of HIV CINA using *Thermus aquaticus* polimerase. - J. of Viral Meth., 1989, v.23, p.277-290; 4. Norval M., Bingham R.W. Advances in the use of nucleic acid probes in diagnosis of viral diseases of man. - Arch. Virol., 1987, v.97, p.151-165; 5. Кубица Ю.Ф. Иммунофлуоресценция. - М.: Медицина, 1967, 255 с.; 6. Крашенюк А.И., Филиппова М.Л., Абышева А.З. и др. Способ очистки вирусной суспензии от надмолекулярных образований. - Ав.св. №1632039 (1988); 7. Абышев А.З., Венедиктова Н.А., Нежинская Г.И. и др. Сополимер N - винилпирролидона и 7-(2-малеимидэтокси) - 2-Н-1-бензопиран-2-она в качестве иммуностимулятора. - Ав. св. №1702665 (1990).

SUMMARY

Synthesis of labelled antibodies to influenza virus hemagglutinin
E.Agayev

The article contains data concerning methods of immunoglobulin G labelled with fluorochrome to influenza virus hemagglutinin for its quantitation with the help of the fluorescent-immune-assay.

Поступила 06.11.2003

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Эффективное влияние энтеросорбции на динамику токсичности крови при перитоните

Э. А. Алиева

НИИ Клинической Медицины им.М.Топчибашева
г. Баку, Азербайджанская Республика

Перитонит - давняя историческая проблема хирургии, а проблема его лечения все еще остается одной из важных задач клинической медицины. Летальность при этом заболевании по последним данным достигает до 30-50%, а при сочетании с полиорганной недостаточностью - 80-90% и выше (9).

Согласно современным представлениям, одним из главных факторов, определяющих тяжесть и неблагоприятный исход разлитого гнойного перитонита, является синдром эндогенной интоксикации (8).

Неудовлетворительные результаты оперативного лечения хирургического эндотоксикоза, возникающего вследствие перитонита, в значительной степени определяются наличием у этих больных тяжелой токсемии, выраженной иммунодепрессией и развитием полиорганной недостаточности. Следует признать и то, что современная медицина добилась определенных успехов в лечении этого тяжелого заболевания, и в настоящее время эндотоксикоз, возникающий вследствие перитонита, перестал быть фатальным страданием. Но вместе с тем, лечение этой грозной патологии все еще остается одной из актуальных проблем в клинической хирургии.

При перитоните прогрессирование патологического процесса и прямое воздействие на кишечную стенку экзогенных и эндогенных токсинов микроорганизмов и продуктов их катаболизма приводит к парезу кишечника и всасыванию токсичных веществ в кровь. В связи с чем нарастает интоксикационный синдром, приводящий к энтеральной недостаточности (10).

Для устранения пареза кишечника, уменьшения избыточной пролиферации и микроорганизмов, обладающих токсичным влиянием на слизистую оболочку, усиливающий интоксикацию, в литературе описано ряд методов лечения, обладающих определенным успехом (5). Но с другой стороны нельзя отрицать их недостатки.

Данные о явных преимуществах применения адсорбента в снижении "токсичности крови" основываются на поглощении токсичных веществ, образующихся в просвете кишки, способности сорбции эндогенных и патогенных кишечных

бактерий, связывать внутрикишечные газы, что дает возможность устранить метеоризм и улучшить кровоснабжение в стенке кишечника. Это явилось основой для определения эффективности разработанного нами угольно-минерального адсорбента УМ-5 при экспериментальном перитоните (4). Предложенный нами новый угольно-минеральный адсорбент УМ-5 был приготовлен в НИИ Нефте-химических процессов НАН Азербайджана.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Эксперимент выполнен нам и на 40 экспериментальных беспородных собак весом 10-18 кг.

Результаты исследования уровня токсичности крови основной группы (33 собаки) с приемом адсорбента сравнивали с контрольной группой (7 собак) - без приема адсорбента.

Экспериментальный перитонит был создан путем аппендэктомии по методу Ф.Ф.Усикова. Обезболивание проводили путем внутривенного введения 5% (25 мг/кг) тиопентала натрия. Лапаротомию осуществляли разрезом 10-12 см по средней линии живота.

Токсичность крови определяли по уровню молекул средней массы (МСМ) и лейкоцитарному индексу интоксикации (ЛИИ).

Определение уровня МСМ проводили экспресс-методом. После удаления из сыворотки крупномолекулярных белков (осаждением раствором трихлоруксусной кислоты) определяли ее оптическую плотность на спектрофотометре СФ-16 при длине волны 254 нм (максимум поглощения веществ низкой и средней молекулярной массы). Результат выражали в условных оптических единицах (у.е) (6)

Лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) определялся с помощью метода Кальф-Калифам (7).

Забор крови для исследования производили в динамике до создания перитонита, через 24 часа после его создания и на 1, 3, 7 и 14 сутки послеоперационного периода.

В послеоперационном периоде в течение 2 суток дачу адсорбента проводили путем введения растворенного в воде угольно-минерального адсорбента УМ-5 из расчета 10 г на 300 мл жидкости в количестве до 1,5-2 литров внутрь (че-

рез назогастральный зонд, оставленный во время операции в желудок).

Через 2 суток животные сами выпивали за сутки до 3-4 л раствора с угольно-минеральным адсорбентом.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Уровень интоксикации во время перитонита через 24 часа в обеих группах был примерно одинаков. Уровень МСМ составлял 0,474 у.е. ($p < 0,001$) и 0,476 у.е. ($p < 0,001$), а уровень ЛИИ - 4,80 у.е. ($p < 0,001$) и 4,69 у.е. ($p < 0,001$), т.е. на 96-98% и 351-355% превышал уровня нормы соответственно.

К 1 суткам после оперативного вмешательства у основной группы после дачи адсорбента имело место снижение уровня МСМ от 0,474 у.е. до 0,471 у.е. ($p < 0,001$) при норме 0,240 у.е., а у контрольной группы к этому времени имело место незначительное повышение данного показателя от 0,476 у.е. ($p < 0,001$) до 0,502 у.е. ($p < 0,001$) при той же норме. То есть токсичность крови у основной группы составляло 94,3%, а у контрольной группы 109% от нормы.

В ходе дальнейшего лечения экспериментальных животных отмечалось снижение уровня МСМ в основной группе более интенсивно, чем у контрольной группы. К 3 суткам уровень токсичности крови у основной группы превышал 48%, к 7 суткам - 11%, а к 14 суткам - 4,6% от нормы. В контрольной группе этот показатель также уменьшался: к 3 суткам повышение токсичности крови составляло 106%, к 7 суткам - 95%, а к 14 суткам - 65% от нормы. Следовательно, уровень токсичности крови у основной группы после дачи адсорбента по сравнению с контрольной группой снизился: к 1 суткам на 6,2%, к 3 суткам - на 28%, к 7 суткам - на 43% и к 14 суткам на 63%.

Таким образом, показатель МСМ в контрольной группе оставался на высоком уровне, а в основной группе после приема адсорбента наблюдалось интенсивное снижение, даже был близок к норме.

Изучение уровня токсичности сыворотки крови экспериментальных животных по ЛИИ в обеих группах через 24 часа после создания перитонита, было приблизительно одинаково. В ходе дальнейшего лечения наблюдалось более интенсивное снижение уровня ЛИИ у основной группы.

К 1 суткам отмечалось снижение показателя ЛИИ от 4,80 у.е. ($p < 0,001$) до 4,76 у.е. (при норме 1,06 у.е.). В контрольной же группе к этому времени имело место незначительное повышение этого показателя с 4,69 у.е. ($p < 0,001$) до 5,17 у.е. ($p < 0,001$), т.е. повышение уровня токсичности крови у основной группы составляло 347%, а у контрольной группы 403% (от нормы). В ходе дальнейшего лечения наблюдалось снижение показателя ЛИИ. Токсичность крови у основной группы по ЛИИ к 3 суткам составляла 259%, к 7 суткам - 126%, к 14 суткам - 39% (от нормы).

Если показатель ЛИИ у основной группы сни-

жался более интенсивно с 1 суток и к 14 суткам доходил почти до нормы, то в контрольной группе постепенное уменьшение начиналось с 3 суток. Повышение токсичности крови составляло 383%, к 7 суткам - 336%, к 14 суткам - 268% (от нормы), а это превышало границы нормы. Сравнивая показатель ЛИИ основной группы с контрольной, следует отметить, что токсичность крови у основной группы начал уменьшаться к 1 суткам на 8%, к 3 суткам - на 22,9%, к 7 суткам - на 46% и к 14 суткам - на 61%. У основной группы после дачи адсорбента показатели ЛИИ и МСМ начали снижаться уже к 1 суткам и к 14 суткам доходили до нормы, а у контрольной же группы снижение отмечалось к 7 суткам, а к 14 суткам оставались выше верхней границы нормы.

Таким образом, применение угольно-минерального адсорбента в лечении экспериментальных животных с перитонитом способствовало ликвидации синдрома эндогенной интоксикации уже на 1 сутки послеоперационном периоде и начала лечения. Кроме того, адекватная санация и дренирование брюшной полости предложенным нами новым методом (1, 2, 3) повышала эффективность удаления из брюшной полости патогенных микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности и, тем самым, способствовала улучшению адсорбционной функции применяемого адсорбента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиева Э.А. Применение полиэтиленового "мешка" для санации брюшной полости при экспериментальном разлитом гнойном перитоните. - Достижения медицинской науки и практического здравоохранения Азербайджана, 2001, т.2, с.502;
2. Алиева Э.А. Влияние нового метода санации и дренирования брюшной полости на состояние клеточного иммунитета при экспериментальном разлитом гнойном перитоните. - Здоровье, 2002, N.3, с.10;
3. Алиева Э.А. Новый метод санации брюшной полости в комплексном лечении экспериментального гнойного перитонита. - В кн.: Мат-лы международн. хирургического конгресса. Баку, 2003, с.20;
4. Алиева Э.А. Применение угольно-минерального адсорбента УМ-5 для энтеродетоксикации при экспериментальном гнойном перитоните. - Здоровье, 2001, N.8, с.9;
5. Ахундов И.Т. Эндолимфатическая терапия перитонита. - Хирургия, 1998, N.7, с.17;
6. Ахундов И.Т. Лимфологические методы лечения хирургического эндотоксикоза вследствие перитонита. Баку: Элм, 1998, с.160-163;
7. Кальф-Калиф Я.Я. О лейкоцитарном индексе интоксикации и его практическом значении. - Врачебное дело, 1941, N.1, с.31-36;
8. Кригер В.Г., Линдерберг А.А. Эндогенная интоксикация при перитоните. - Вестник хирургии, 1985, N.3, с.130-133;
9. Кузин М.И., Дадвани С.А., Сорокина М.И. Лечение распространенного гнойного перитонита с полиорганной недостаточностью. - В кн.: Тезисы докл. Московского Международн. конгресса хирургов. М., 1995, с.6-7;
10. Пауков В.С., Орехова Е.В. Изменение мышечной оболочки и межмышечного нервного сплетения кишечника при экспериментальном перитоните крыс. - Арх. патологии, 1990, т.52, вып.9, с.56-62.

SUMMARY

Effective influence of enterosorbption to dynamics of the blood toxicity at peritonitis

E.Aliyeva

The brief communication have shown effectivity of enterosorbption for toxicity dynamics at peritonitis in experimental research.

Поступила 24.12.2003

ИСТОРИЯ БИОМЕДИЦИНЫ

К 15-летию идентификации вируса гепатита С

Идентификация вируса гепатита С - только среднее звено в цепи открытий

В январе 2004 г. исполнилось 15 лет со времени первой идентификации генома вирусного агента, вскоре признанного возбудителем одной из самых распространенных этиологических форм посттрансфузионного гепатита "ни А, ни В" - вирусного гепатита С.

Прошедшие с того времени годы были весьма плодотворными в отношении расшифровки этиологии вирусных гепатитов: менее, чем за 10 лет были идентифицированы вирусы гепатитов G, SEN и TTV. Вместе с тем, на протяжении всего этого периода в центре внимания специалистов оставался именно вирус гепатита С, а его детальное изучение привело к открытию трех упомянутых выше вирусов.

В первую очередь, отметим, что путь к открытию вируса гепатита С на отрезке времени длиной почти в 20 лет от момента визуализации частицы вируса гепатита В проходил через ряд других открытий, на некоторых из которых стоит остановиться подробнее.

Первым в этом ряду открытий стало обнаружение вируса гепатита А. Прежде всего, отметим, что в 1967 г. немецкий исследователь Фридрих Дейнхардт, используя полученный у Кругмана штамм вируса MS1, сумел инфицировать им игрунковых обезьян (мармозетов) и вызвать у них клинико-биохимическую картину острого гепатита. Далее, в 1973 г. группе американских исследователей во главе со Стефеном Файнстоуном с помощью иммуноэлектронной микроскопии удалось сфотографировать вирионы в экстрактах фекалий 2 волонтеров, зараженных сывороткой от типичного больного гепатитом А. Вскоре антигенно и морфологически идентичные частицы были выявлены в фекалиях больных с естественно приобретенным гепатитом А, а также в испражнениях мармозетов, инфицированных штаммом вируса MS1. Это и послужило основанием утверждать, что частицы, обнаруженные в этих материалах, являются вирионами гепатита А.

Итак, к 1973 году были идентифицированы вирусы гепатита В и А, а к 1975 г. уже появились коммерческие наборы для радиоиммунологического обнаружения в крови серологических маркеров инфицирования этими вирусами, т.е.

стала возможной их лабораторная диагностика.

Вскоре после внедрения в клинику методов серологической диагностики гепатита А (ГА) и гепатита В (ГВ) стали появляться отдельные сообщения о случаях повторного заболевания людей гепатитами, при которых, несмотря на высокую чувствительность использованных методов, не удавалось выявить специфических маркеров, характерных для ГА и ГВ.

Следует отметить, что на возможность развития вирусного гепатита после переливания крови, свободной от австралийского антигена, впервые указал М.Голдфилд еще в 1971 г. В 1974 г. Альфред Принс и С.Файнстоун, а в 1975 г. Харви Альтер и Джон Мозли, независимо друг от друга, также опубликовали сообщения о развившихся после гемотрансфузий гепатитах, не связанных с вирусами гепатитов А и В. Эти данные косвенно указывали на существование еще одной разновидности вирусного гепатита, которую А.Принс предложил назвать "вирусным гепатитом типа С".

В ходе проведенных в последующем в лабораториях многих стран мира сероэпидемиологических и диагностических исследований накапливались данные о том, что посттрансфузионные гепатиты, не связанные с вирусом гепатита В, имеют довольно широкое распространение во всем мире. В то же время, результаты этих исследований свидетельствовали об ощутимых различиях в длительности инкубационного периода и особенностях заболеваемости (наряду с эпидемическим распространением инфекции, отмечались и случаи спорадических заболеваний). Это указывало на этиологическую неоднородность посттрансфузионных гепатитов, не связанных с вирусами гепатитов А и В, и предопределило отказ (как оказалось, временный) от термина "гепатит С", вместо которого стал все шире использоваться предложенный С.Файнстоуном весьма неопределенный по содержанию термин "вирусные гепатиты ни-А, ни-В" (hepatitis non A, non B).

В 1977 г. комитет экспертов ВОЗ по вирусному гепатиту официально принял сохраняющуюся поныне номенклатуру вирусных гепатитов, в которой выделялись 2 типа заболевания. В соотве-

тствии с ней вирус - возбудитель инфекционного гепатита стал официально называться вирусом гепатита А и получил аббревиатурное обозначение - ВГА или HAV, а возбудитель сывороточного гепатита стал называться вирусом гепатита В и обозначаться как ВГВ или HBV. Антитела к ВГА стали обозначаться как anti-HAV. Антигены ВГВ получили обозначение HBsAg (вместо "австралийского" антигена), HBeAg и HBcAg, а антитела - anti-HBs, anti-HBe и anti-HBc, соответственно. В эту же номенклатуру для временного использования был включен и термин "вирусный гепатит ни А, ни В" и аббревиатура ГНАНВ, призванные отразить лишь факт отсутствия этиологической связи этой инфекции с ВГА и ВГВ.

Начались целенаправленные поиски возбудителя ГНАНВ, которые уже в 1977 г. первоначально привели к открытию, так называемого, вирусного гепатита "дельта", впервые описанного итальянским исследователем Марио Ризетто. Однако, вскоре было установлено, что дельта-агент, представляющий собой дефектный вирус, сам по себе не способен вызывать гепатит, выступает лишь в качестве сателлита ВГВ, присутствие которого ощутимо отягощает течение гепатита В. Позднее гепатит, вызванный ассоциацией ВГВ и дельта-агента (ныне называемого вирусом гепатита D), стал условно именоваться гепатитом D.

Продолжавшиеся поиски возбудителей ГНАНВ привели к тому, что в качестве "кандидатов" на эту роль разными исследователями были представлены данные более, чем о десятке вирусных агентов. Однако, ни в одном случае специфическую связь этих вирусов с ГНАНВ подтвердить не удавалось. Лишь в 1982 г., Джеймс Мейнард в Непале и М.С.Балаян в Афганистане эпидемиологически и серологически идентифицировали первый из ГНАНВ. Однако, этот гепатит клинически и эпидемиологически очень напоминал гепатит А и потому был назван "фекально-оральным ГНАНВ", а его электронномикроскопически визуализированный в 1983 г. возбудитель, морфологически неотличимый от ВГА, первоначально был назван "ВГА второго типа". Позднее выяснилось, что по своим важнейшим свойствам этот вирус, как и возбудитель одного из гастроэнтеритов человека, относится к семейству калицивирусов и, таким образом, вовсе не связан с ВГА. В 1990 г. по предложению Джорджа Рейса, инфекция, вызванная этим вирусом, была официально обозначена как гепатит Е, а ее возбудитель получил название вируса гепатита Е.

Итак, уже к середине 80-х гг. прошлого века не вызывал сомнений тот факт, что ГНАНВ представлены, по меньшей мере, двумя этиологически неоднородными инфекциями, одна из которых эпидемиологически напоминает гепатит А, а другая имеет большое сходство с гепатитом В.

Идентификация возбудителя первой из них, во многом прояснившая ситуацию с ГНАНВ не сняла с повестки дня вопрос об этиологии второй. Поиски ее возбудителя продолжались.

Надо отметить, что в 1978 г. двум исследовательским группам, работавшим в США под руководством Х.Альтера и Эдварда Тэйбора, удалось путем введения шимпанзе материала от больного посттрансфузионным ГНАНВ воспроизвести у этих приматов гепатит, обусловленный одним из вирусов ГНАНВ. В том же году появились сообщения нескольких исследователей (Э.Табора, Р.Ренджер, Р.Ширачи) о создании диагностических тест-систем, основанных на радиальной иммунодиффузии и встречном иммуноэлектрофорезе, пригодных для выявления вируса посттрансфузионного ГНАНВ. Однако, оказалось, что эти тест-системы выявляли не вирусспецифические антигены, а какие-то посторонние серологически активные агенты.

Появление экспериментальной модели ГНАНВ на шимпанзе наметило определенный прогресс в области изучения этиологии ГНАНВ. Уже в 1983 г. С.Файнстоун сообщил об обнаружении у шимпанзе, инфицированного материалом от больного ГНАНВ, вирусных частиц диаметром 50-100 нм, которые инактивировались хлораминном. В 1985 г. группа Дэниэла Брэдли в США в тщательно выполненных сериях опытов по пассивированию вируса ГНАНВ на шимпанзе показала, что он представляет собой небольшой, скорее всего, РНК-содержащий вирус размерами 60-80 нм, обладающий липопротеидным суперкапсидом. Тем не менее, несмотря на многочисленные попытки, вирус не был получен в виде чистого препарата, что препятствовало его визуализации и не позволяло детально изучить его морфологию. Сегодня ясно, что причина неудачных попыток электронно-микроскопической визуализации этого вируса, скорее всего, крылась в чрезвычайно низкой концентрации вирусных частиц в плазме крови.

Кроме того, к этому времени были получены эпидемиологические данные, подтверждающие ранее высказываемые предположения о существовании, как минимум, двух различных возбудителей посттрансфузионного ГНАНВ. В 1981 г. группа японских исследователей во главе с Хироши Йошизавой получила и первые экспериментальные доказательства обоснованности этих предположений: экспериментально заражая шимпанзе от разных больных людей, они обнаружили отсутствие перекрестного иммунитета у животных, инфицированных различными материалами. В 1983 г. Д.Брэдли, а в 1986 г. Дж.Хеллис также сообщили об идентификации в опытах на шимпанзе двух вирусных агентов, вероятно, связанных с посттрансфузионным ГНАНВ и отличающихся между собой по резис-

тентности к хлороформу и характеру вызываемых ими в печени патоморфологических изменений.

Эти данные препятствовали формированию единого представления об этиологии посттрансфузионного ГНАНВ и разработке серологических методов его диагностики, которая осуществлялась лишь на основании факта повышения активности в крови аминотрансфераз при отсутствии в ней серологических маркеров инфицирования ВГА и ВГВ.

Неожиданно для многих, подход к решению этой проблемы наметился в 1989 г., когда возглавляемой Майклом Хаутоном группе американских исследователей (К.Чу, Г.Куо и др.) из калифорнийской фирмы "Кайрон" совместно с Д.Брэдли (отдел гепатитов Центра по контролю заболеваний в Атланте) с помощью генноинженерного метода удалось получить рекомбинантный вирусспецифический белок и на его основе разработать тест-систему для серологической диагностики одного из посттрансфузионных ГНАНВ.

В начале 1989 г. Куи-Лим Чу и его коллеги ультрацентрифугированием плазмы крови инфицированных вирусом ГНАНВ шимпанзе выделили из нее молекулы нуклеиновых кислот, по размерам соответствующие геномам небольших вирусов. Далее было получено множество ДНК-копий этих нуклеиновых кислот. Поскольку тип генома искомого вируса не был известен, копии были получены с помощью транскриптазы (если геном представлен ДНК) и обратной транскриптазой (если геномом является РНК).

Полученные ДНК-копии были инкорпорированы в бактериофаги, которые использовали как векторы для введения их в бактерии. Было получено около 1 млн клонов, сформировавших своеобразную "библиотеку" рекомбинантных клонов в бактериофагах. При этом, методом Саузерн-блот-анализа из библиотеки были исключены те клоны, которые имели высокую степень гибридизации с ДНК шимпанзе. Оставшимися бактериофагами были инфицированы бактерии, размножение которых сопровождалось и экспрессией пептидов, детерминируемых указанными клонами. Продукты экспрессии этих клонов методом скрининга с помощью иммуноблоттинга были протестированы на способность специфически связываться с антителами, выделенными из крови инфицированных шимпанзе. В результате были изолированы бактерии (их клон был обозначен символом "5.1.1"), которые синтезировали серологически активный рекомбинантный пептид, реагирующий с антителами, выделенными из сыворотки не только экспериментально зараженных шимпанзе, но и нескольких больных ГНАНВ. Это указывало на то, что пептид "5.1.1.", по всей вероятности, является фрагмен-

том вирусспецифического белка (неструктурного белка NS4), принадлежащего возбудителю ГНАНВ.

"Вырезав" из ДНК бактериофага последовательность, кодирующую пептид 5.1.1., исследователи использовали ее в качестве "зонда" для гибридизационного анализа исходной фаговой библиотеки клонов ДНК-копии вирусного генома. Оказалось, что она не гибридизируется с последовательностями РНК из печени здоровых шимпанзе, но гибридизируется с участками РНК, выделенной из печени зараженных шимпанзе. Кроме того, этот анализ позволил выявить и другие клоны, содержащие комплементарные участки этой ДНК.

Последующий молекулярный анализ этой РНК позволил прийти к выводу о том, что возбудителем этого ГНАНВ является РНК-содержащий вирус, обладающий оболочкой. Авторы назвали его "вирусом гепатита С" (ВГС) и показали, что его геномом является одноцепочечная позитивная РНК, состоящая, примерно, из 10 тысяч нуклеотидов. На основании результатов такого анализа авторы предположили, что, судя по основным свойствам, ВГС таксономически может принадлежать к семействам либо тога-, либо флавивирусов.

И, наконец, идентифицировав вирусспецифический белок, эти исследователи на его основе, почти вслепую, создали первую экспериментальную радиоиммунологическую тест-систему, позволяющую идентифицировать инфекцию путем выявления антител к этому вирусспецифическому белку.

Сегодня, спустя 15 лет, совершенно очевидно важное утилитарное значение этого исследования, состоявшее, по сути, в открытии ВГС и разработке первого серологического метода диагностики вызываемой им инфекции. Оно имело и трудно оценимое общенаучное значение, поскольку, будучи пионерским по методологии, оно впервые в истории вирусологии продемонстрировало принципиальную возможность идентификации новых вирусов с помощью чисто молекулярно-биологического подхода. И, наконец, двухстраничная публикация этих исследователей в мартовском номере 1989 г. журнала "Science" положила начало новому периоду в изучении гепатита С и послужила мощным стимулом к дальнейшим изысканиям по расшифровке этиологии вирусных гепатитов, вообще.

В том же году Джордж Куо, совместно с сотрудниками известной американской фирмы "Орто", используя аналогичный подход (клонирование и транскрипция РНК ВГС в клетках дрожжей), получили другой рекомбинантный белок - С100-3" (более крупный фрагмент неструктурного белка NS-4). На основе использования этого белка для сенсibilизации твердофазных

носителей фирма "Орто" уже в 1989 г. впервые в мире создала коммерческие радиоиммунологическую и иммуноферментную тест-системы для выявления антител к NS4, которые стали обозначаться символом "анти-ВГС" (anti-HCV).

Появление этого диагностикума сыграло неопределимую роль в последующем изучении инфекции, обусловленной ВГС. Однако, его ограниченные диагностические возможности (он позволял серологически выявлять инфекцию только у 85% больных хроническим и 30% больных острым и лишь спустя 10-12 недель после инфицирования) послужили стимулом для дальнейшего совершенствования лабораторной диагностики гепатита С. За короткое время несколькими группами исследователей в США и Японии было проведено детальное изучение генома ВГС и большинства продуктов его экспрессии. Это позволило уже в 1990 г. создать более чувствительные и специфичные диагностические тесты "второго поколения", основанные на использовании нескольких рекомбинантных вирусспецифических белков.

В 1990 г. сотрудниками фирмы "Кайрон" Эми Уайнером и соавторами был разработан метод индикации ВГС в сыворотке крови на основе амплификации в полимеразной цепной реакции (ПЦР) ДНК-копии его генома на аттестованных праймерах и последующим анализом продуктов в тесте Саузернблот. Благодаря этому подходу, по существу являющемуся обратнотранскриптазной ПЦР (RT-PCR), ученые получили возможность обнаруживать РНК ВГС с очень высокой чувствительностью, что позволяло надежно диагностировать инфекцию в острой фазе и, даже, во время инкубационного периода, когда антитела к ВГС еще не выявляются. На основе этой разработки вскоре была создана коммерческая тест-система, существенно расширившая возможности молекулярной диагностики этой инфекции. Когда же выяснилась генетическая неоднородность изолятов ВГС, на основе этого подхода был разработан метод определения генотипов вируса, что имело большое значение при лечении этого заболевания.

Параллельно с совершенствованием методов диагностики, предназначенных для скрининговых исследований, велась разработка и подтверждающих (конформационных) тестов, обладающих более высокой специфичностью. Эти изыскания велись в двух направлениях.

Развитие первого из них привело к созданию иммуноферментных тест-систем, в которых в качестве антигенов были использованы как неструктурные, так и структурные белки (тесты "третьего поколения"). Они позволили повысить показатели выявляемости у больных острым и хроническим ГС, соответственно, до 70 и 99,5%.

Работа во втором направлении привела к

совместной разработке фирмами "Кайрон" и "Орто" в 1992 г. конформационного метода одновременного раздельного выявления в одной сыворотке антител к различным вирусным белкам на основе иммуноблотинга, получившего название Recombinant immunoblot assay (RIBA). Эта и сходные с ней другие тест-системы повысили специфичность исследования почти до 100%, позволяя выявлять сероконверсию уже к концу 4-й недели после инфицирования.

Здесь же заметим, что выявление антигенов ВГС в крови оказалось методически более сложной задачей, решение которой затруднялось очень низкой концентрацией в ней вирусспецифических белков. Поэтому данную задачу удалось решить лишь спустя 10 лет: в 1999 г. американская фирма "Орто" начала промышленный выпуск иммуноферментной тест-системы для выявления в крови антигена ВГС, что имело громадное значение для повышения эффективности скрининга на инфицированность переливаемой крови.

Таким образом, открытие, которому посвящен этот очерк, послужило основой чрезвычайно плодотворных научных изысканий и технических разработок, в течение всего трех лет завершившихся не только всесторонним изучением самого вируса, но и созданием надежных методов идентификации как самого ВГС, так и вызываемой им инфекции.

В то же время, ВГС, будучи детально охарактеризован в молекулярно-генетическом отношении, все еще оставался не визуализирован, что служило существенным препятствием для изучения его морфологии и архитектоники. Опубликованное в 1991 г. сообщение Брэдли о визуализации в печени экспериментально зараженных шимпанзе вирусоподобных сферических частиц размерами 39-45 нм, обладающих мембранной оболочкой и содержащих внутреннюю структуру диаметром 37 нм, не позволяло однозначно признать их частицами ВГС, поскольку их способность реагировать с anti-HCV не была документирована. И лишь в 1994 г. японские исследователи М.Каито, С.Ватанабе и другие с помощью иммуноэлектронной микроскопии получили первые качественные микрофотографии вирионов ВГС в ультратонких срезах печени.

Итак, к 1994 г. проблема этиологии наиболее важного ГНАНВ и идентификации его возбудителя была, в целом, решена. Однако, уже тогда было ясно, что круг вопросов, связанных с ГНАНВ, как и проблема вирусных гепатитов в целом, все еще не исчерпана. А вскоре стало ясным, что открытие ВГС оказалось лишь одним из звеньев в цепи открытий возбудителей ряда других гепатотропных инфекций, которые не заставили ждать себя долго.

Как уже упоминалось, еще до открытия ВГС

имелись веские основания полагать, что существует, по меньшей мере, два этиологически неидентифицированных посттрансфузионных ГНАНВ. После появления методов специфической диагностики инфекции, вызванной ВГС реальность его существования была подтверждена. С учетом этого обстоятельства в 1991 г. ВОЗ рекомендовала для обозначения этого типа гепатита использовать временный термин "вирусный гепатит ни А, ни В, ни С, ни D, ни Е". Тем не менее, в 1991-1992 гг. японские исследователи, в соответствии со сложившейся традицией, для его обозначения использовали очередную букву английского алфавита - F, хотя уже в 1993 г. Т.Ухида предположил, что вирус гепатита F в действительности является одним из мутантных вариантов вируса гепатита В.

Хронологически сложилось так, что претендентами на очередную букву в списке возбудителей гепатитов, аллегорически названным англичанином Ариэлем Цукерманом "гепатитным алфавитом", стали вирусы, этиологически связанные не с посттрансфузионным, а спорадическим энтеральным гепатитом. Так, в 1994 г. французский исследователь Норман Дека и его коллеги, заразив макака экстрактом фекалий больных острым ГНАНВ, воспроизвели у них картину гепатита. Выделенный ими из экскрементов обезьян вирус имел размеры 27-35 нм и обладал геномом, представленным двухцепочечной ДНК размером около 20 килобейс. Этот вирусный агент был провизорно назван ими *Hepatitis French virus (HFV)* или вирус гепатита F. Однако, вопрос о данном вирусе остался открытым, поскольку эти авторы не сообщили о результатах его дальнейшего изучения. В 1997 г. Ж.Пилло предложил второго "кандидата" на роль ВГГ - также выделенного из испражнений больного гепатитом агента, морфологически сходного с аденовирусом. Однако, многие вопросы о гепатите F, как и о его возбудителе, до сих пор остаются открытыми, хотя имеющиеся сегодня данные показывают реальность существования еще одного, третьего (наряду с гепатитами А и Е) вирусного гепатита с фекально-оральным механизмом передачи возбудителя.

Следующей вехой на пути изыскания новых гепатитных вирусов стало открытие в 1995 г. вируса гепатита G - ВГГ. Однако, эта история началась с того, что в 1967 г. Ф.Дейнхардт, проводя опыты по заражению обезьян-тамаринов, использовал для инфицирования кровь заболевшего гепатитом хирурга G.Barker'a и в ходе пассажей выделил неидентифицированный агент, названный им вирусом GB (GBV). Образцы инфицированных этим вирусом сывороток крови человека и обезьян более 25 лет хранились в серологическом банке Центра по контролю заболеваний в Атланте. И лишь после появления

метода молекулярного клонирования вирусных геномов в 1993-1994 гг. исследователи фирмы "Эббот" во главе с Дж.Линеном и группа Иссy Мушахвара в сотрудничестве с коллегами из Центра по контролю заболеваний подвергли их повторному исследованию.

Первоначально в этих сыворотках, в которых отсутствовали серологические и молекулярные маркеры инфицирования вирусами А, В, С и Е, удалось выявить геномы двух вирусов, которые исследователи обозначили, как GBV-A и GBV-B. Вскоре был выявлен и геном третьего вируса - GBV-C. Все три вируса являлись РНК-содержащими и имели большое сходство с флавивирусами, причем, по структуре РНК и составу белков первые два походили на вирусы, ассоциированные с гепатитами у тамаринов, а третий - генетически весьма близкий к ВГС (его геном имел 90% гомологии с геномом ВГС), соответствовал возбудителю посттрансфузионного гепатита человека, который и был назван ВГГ и вскоре был официально признан еще одним из возбудителей вирусных гепатитов. Вскоре были разработаны диагностические тест-системы (сначала на основе ПЦР, а позднее и иммуноферментного анализа) для выявления инфекции, вызванной ВГГ.

Внедрение в диагностическую практику доступных тест-систем, позволяющих точно определять инфекции, вызываемые всеми известными возбудителями вирусных гепатитов, позволило установить, что в отдельных случаях у больных посттрансфузионными гепатитоподобными заболеваниями не удается выявить серологические или молекулярные маркеры инфицирования уже известными вирусами. Это с определенностью указывало на существование еще не идентифицированных гепатотропных вирусов и побуждало продолжать исследования в направлении этиологической расшифровки таких инфекций.

В 1997 г. группа японских исследователей (Т.Нишизава и др.) у больных посттрансфузионным гепатитом "ни А, ни G" с помощью модифицированной ПЦР идентифицировали ДНК ранее неизвестного вируса, который был обозначен аббревиатурой TTV (*transfusion-transmitted virus*). Изучение TTV показало, что его геном представлен одноцепочечной негативной ДНК размером около 4 килобейс, а сам вирус таксономически относится (первоначально предполагалось, что TTV относится к парвовирусам) к новому семейству - цирциноввирусов. Сегодня известно, что инфекция, вызванная TTV, распространена глобально, однако, однозначный ответ на вопрос патогенен ли этот вирус для человека, до сих пор не получен.

И, наконец, в июле 1999 г. сотрудник итальянской фирмы "Dia-Sorin" Даниэль Перими в ин-

тервью газете "Нью-Йорк таймс" сообщил, что открыл новый ДНК-содержащий вирус гепатита, названный им "вирусом SEN" по инициалам больного, от которого получен первый изолят (год спустя автор и его коллеги получили патент на это открытие). Оказалось, что SEN-вирус по основным свойствам и в таксономическом отношении весьма близок к TTV, если не является его вариантом. Роль этого вируса в патологии человека и, в частности, в этиологии гепатита, пока остается невыясненной.

Итак, в области изучения этиологии вирусных гепатитов достигнуты действительно большие успехи. Обращая же взор в недавнее прошлое, сегодня можно себе представить то удовлетворение, которое 15 лет назад испытали все работавшие над расшифровкой этиологии посттрансфузионного гепатита исследователи, узнав о долгожданной идентификации вируса гепатита С. Тогда многим казалось, что настает время когда в этой проблеме наконец все прояснится. Но, как это нередко случалось в науке, даже это, исключительно важное открытие, не стало

последней страницей фолианта под названием "Этиология вирусных гепатитов": за минувшие с того времени полтора десятилетия удалось идентифицировать 4 новых вируса, а гепатитный "алфавит" увеличился ровно вдвое. И сейчас можно лишь надеяться, что исследователи уже ближе к концу, чем к началу пути к окончательной расшифровке этиологии этой группы вирусных инфекций.

К сожалению, кратко пересказывая эти исторические факты читателю, мы так и не смогли передать ему ту эмоциональную атмосферу, в которой происходил поиск новых гепатитных вирусов. Да это и не входило в нашу задачу, поскольку мы полагали, что главное - это факты и имена, а эмоции всегда со временем тускнеют, надолго оставаясь в памяти только тех, кто хоть раз сам испытал радости и разочарования, без которых настоящий научный поиск невозможен.

М.К.Мамедов, С.М.Мамедова
Онкологический научный центр;
Медицинский центр "Euromed", г.Баку